

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO TECNOLÓGICO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA AMBIENTAL

BRUNA NEUMANN

**AVALIAÇÃO DE NOVA METODOLOGIA PARA DETECÇÃO
DE MICRORGANISMOS REDUTORES DE SULFATO (MRS)
APLICADA À INDÚSTRIA DE PETRÓLEO E GÁS**

VITÓRIA
2012

BRUNA NEUMANN

**AVALIAÇÃO DE NOVA METODOLOGIA PARA DETECÇÃO
DE MICRORGANISMOS REDUTORES DE SULFATO (MRS)
APLICADA À INDÚSTRIA DE PETRÓLEO E GÁS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental do Centro Tecnológico da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Engenharia Ambiental, na área de concentração Saneamento Ambiental.

Orientador: Prof^o PhD. Sérgio Túlio Alves Cassini

VITÓRIA

2012

Dados Internacionais de Catalogação-na-publicação (CIP)
(Biblioteca Central da Universidade Federal do Espírito Santo, ES, Brasil)

N489a Neumann, Bruna, 1983-
Avaliação de nova metodologia para detecção de microrganismos redutores de sulfato (MRS) aplicada à indústria de petróleo e gás / Bruna Neumann. – 2012.
127 f. : il.

Orientador: Sérgio Túlio Alves Cassini.
Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) –
Universidade Federal do Espírito Santo, Centro Tecnológico.

1. Petróleo. 2. Gás . 3. Microrganismos redutores de sulfato.
4. Corrosão. I. Cassini, Sérgio Túlio Alves. II. Universidade
Federal do Espírito Santo. Centro Tecnológico. III. Título.

CDU: 628

BRUNA NEUMANN

**AVALIAÇÃO DE NOVA METODOLOGIA PARA DETECÇÃO
DE MICRORGANISMOS REDUTORES DE SULFATO (MRS)
APLICADA À INDÚSTRIA DE PETRÓLEO E GÁS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental do Centro Tecnológico da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Engenharia Ambiental.

Aprovada em 02 de março de 2012.

COMISSÃO EXAMINADORA

Profº PhD. Sérgio Túlio Alves Cassini
Orientador - UFES

Profª. Drª. Ariuska Karla Barbosa Amorim
Examinadora Externa - UNB

Profº. PhD. Regina de Pinho Keller
Examinadora Interna - UFES

“À minha família, pela oportunidade de educação que me ofereceram e por todo amor dedicado”.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, pela presença em todos os momentos.

Aos meus pais, pela compreensão e amor incondicional em toda a minha vida, além da paciência e motivação para a conclusão desse trabalho.

Ao Prof^o. Sérgio Túlio, pela contribuição científica e orientação com paciência e compreensão para que fosse possível concluir com êxito o trabalho.

Aos doutores, pela contribuição técnica e sabedoria ao longo de todo curso.

À banca examinadora, por contribuir criticamente para a melhoria deste trabalho.

À toda força de trabalho da Petrobrás, incluindo motoristas, técnicos em química, técnicos de inspeção, técnicos de operação e engenheiros, que sempre se mostraram empenhados e dispostos a colaborar com toda a pesquisa. Em especial, aos colegas da UTGC (Unidade de Tratamento de Gás de Cacimbas), que muitas vezes trocaram escalas e me incentivaram para que eu pudesse concluir o curso, principalmente aos Técnicos de Operação que contribuíram nas coletas e abertura das câmaras de pig.

Às amigas da república em Linhares (Débora, Drielly, Érica, Marcela, Márcia, Markelly, Soraya), que sempre me apoiaram nos momentos difíceis e me incentivaram a prosseguir nas idas à Linhares durante as minhas folgas para realizar as coletas.

Aos funcionários do CENPES (Jorge Lacerda, Ana Carla, Vanessa Volaro) que atenderam às minhas dúvidas e mostraram-se abertos à discussão e à busca pela melhoria do método de contagem de microrganismos.

Aos colegas do mestrado, pela presença constante, ajuda concedida, conselhos e experiências adquiridas, em especial aos amigos e amigas que compartilharam longas horas diárias, noturnas e fins de semana no laboratório (Andréia, Ademir, Rodrigo, Paulo, Karolina, Suzany, Renata C., Elaine, Lorena, Sara), aos amigos que contribuíram com discussões neste trabalho (Helenice, Mônica, Cristiane V., Paulo Wagner, Paula). Agradeço imensamente ao Prof. Dr^o Adelmo Bertolde e ao doutorando Rodrigo Pratte que não mediram esforços para colaborar na parte

estatística da pesquisa. Agradeço à Prof. Dr^a Cristiane P. Zdradek e ao Luís R.O. Martins pela melhoria da versão final do trabalho com as discussões dos resultados.

À minha estagiária Bárbara que foi essencial na fase de obtenção dos resultados e se mostrou sempre disposta em aprender e colaborar, demonstrando esforço e dedicação por longos dias e noites nos experimentos laboratoriais.

À funcionária do laboratório (Márcia) pela motivação e alegria contagiante, tornando nossos dias mais felizes durante o trabalho árduo de laboratório.

À todos amigos que me proporcionaram momentos de descontração e estiveram presentes alegrando meus dias, nos churrascos e nas festas para desestressar do mestrado. Em especial, à Lu, Louisi, Carla, Drielly, Mônica, Marcela, Slânia, Georgette e Cecília pela amizade incondicional de longa data e à Taylana e Érica, amigas mais recentes.

À Petrobrás e ao LabPetro representado pelo Prof^o Eustáquio, pelo financiamento da pesquisa. Em especial, aos gerentes e supervisores da Petrobrás que concederam a liberação para a realização das coletas nos dutos e tanques das instalações da empresa para o estudo da biocorrosão, assim como o transporte das amostras.

É importante ressaltar que por detrás desta pesquisa há muito esforço, colaboração, dedicação, cansaço físico e mental, ansiedade e comprometimento para concluí-lo com êxito, então, acredito que posso expressar o longo caminho percorrido em todo o mestrado com uma única palavra, SUPERAÇÃO!!! Por isso, os meus mais sinceros agradecimentos à todos que de alguma forma contribuíram na realização desse trabalho, mesmo que não citados aqui.

“Não sabendo que era
impossível, foi lá e fez”.

Jean Cocteau

RESUMO

Os Microrganismos Redutores de Sulfato (MRS) são um grupo diversificado de bactérias e arqueas com o crescimento heterotrófico e anaeróbio, reduzem sulfatos e produzem sulfeto de hidrogênio (H_2S) que pode ser detectado através da presença de precipitados de cor no meio líquido. Muitos esforços estão sendo direcionados para o desenvolvimento de métodos rápidos e simplificados de enumeração de MRS que possibilitem um diagnóstico mais rápido da Corrosão Influenciada Microbiologicamente (CIM). O objetivo principal deste estudo foi avaliar uma nova metodologia de detecção e contagem de MRS em amostras do sistema de produção de petróleo e gás. O experimento foi planejado a partir da comparação da contagem microbiana entre o método tradicional (28 dias de incubação) e o método de microplacas (07 dias de incubação). O monitoramento do crescimento microbiano ocorreu durante 06 meses (maio 2011 a outubro de 2011) em oito pontos de amostragem que incluem à montante e jusante de dutos (gasoduto, aqueduto, oleoduto) e drenos de tanques de armazenamento de água produzida. Nesses pontos foi avaliada a qualidade da água por meio de variáveis físico-químicas (APHA, 2005) e o crescimento de MRS e BANHT pelos métodos microbiológicos citados em amostras de água produzida, óleo e resíduos depositados nos dutos. Os resultados das análises estatísticas referentes à enumeração de MRS e Bactérias Anaeróbias Heterotróficas Totais (BANHT) demonstraram uma vantagem significativa na redução do tempo de processamento da amostra utilizando o novo método proposto (7 dias) em comparação com o método tradicional (28 dias), permitindo a obtenção do diagnóstico mais rápido. Portanto, o emprego deste novo método de detecção na indústria de petróleo e gás contribuirá para a aplicação de medidas preventivas e/ou corretivas de forma mais imediata, conseqüentemente, o controle desses microrganismos possibilitará a economia de recursos ao evitar problemas de biocorrosão que resultam em poluição ambiental, perda de produção e podem afetar a saúde humana através da produção de H_2S .

Palavras-chave: Corrosão Influenciada Microbiologicamente. Método de microplacas. Microrganismos Redutores de Sulfato. Petróleo e Gás.

ABSTRACT

The microorganisms sulfate reducers (MRS) are a diverse group of bacteria and archaea and the heterotrophic anaerobic growth, reduce sulfates and produce hydrogen sulfide (H₂S) can be detected through the presence of precipitates in the liquid color. Many efforts are being directed towards the development of rapid methods and simplified enumeration MRS that enable a more rapid diagnosis of Microbiologically Influenced Corrosion (MIC). The main objective of this study was to evaluate a new method for detection and enumeration of MRS in samples of the oil and gas. The experiment was designed based on the comparison between the microbial count method (28 days incubation) and the new proposed method (07 days incubation). The monitoring of microbial growth occurred during 06 months (May 2011 to October 2011) in eight sampling points that include upstream and downstream pipelines (pipeline, aqueduct, pipeline) drains and storage tanks of water produced. These points was assessed water quality through physico-chemical variables (APHA, 2005) and growth of MRS and BANHT by microbiological methods in samples of produced water, oil and waste deposited in the ducts. The results of the analyzes statistics for enumeration of MRS total heterotrophic bacteria and anaerobic bacteria (BANHT) showed a significant advantage in reducing the processing time of the sample using the new proposed method (7 days) in comparison with the traditional method (28 days) allowing the achievement of more rapid diagnosis. Therefore, the use of this new detection method in the oil and gas contribute to the implementation of preventive measures and / or corrective actions in a more immediate, thus the control of these microorganisms enable the economy of resources to avoid problems that result in biocorrosion environmental pollution, loss of production and can affect human health through the production of H₂S.

Keywords: Microbiologically Influenced Corrosion. Method microplate. Microorganisms sulfate reducers. Oil and Gas.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AFS - Adenosina fosfosulfato
AMP - Adenosina monofosfato
AP – Água Produzida
API - American Petroleum Institute
ATP – Trifosfato de Adenosina
A7 - Método alternativo com 7 dias de incubação
A28 - Método alternativo com 28 dias de incubação
BA – Bactérias Anaeróbias Heterotróficas Totais
BR – Bactérias Redutoras de sulfato
MRS – Bactérias Redutoras de Sulfato
BANHT – Bactérias Anaeróbias Heterotróficas Totais
CIM – Corrosão Influenciada Microbiologicamente
CD - Condutividade
CV - Coeficiente de variação
DBO - Demanda Bioquímica de Oxigênio
DP – Desvio Padrão
DQO – Demanda Química de Oxigênio
ES - Espírito Santo
EPA - Environmental Protection Agency
EPS - Exopolissacarídeos
FAFS - Fosfoadenosina fosfosulfato
GLP - Gás liquefeito de petróleo
Hmc – Complexo Protéico
LABSAN - Laboratório de Saneamento
LGN - Líquido de Gás Natural
MA - Média aritmética
ME – Mediana
MRS - Microrganismos Redutores de Sulfato
NACE - National Association Corrosion
NMP - Número Mais Provável
Oxigênio Dissolvido - OD
Ppi – Pirofosfato
Rs – Coeficiente de Spearman

SST - Sólidos Suspensos Totais

SSV - Sólidos Suspensos Voláteis

ST – Sólidos Totais

STV – Sólidos Totais Voláteis

T - Método tradicional

TE - Temperatura

TOG - teor de óleos e graxas

TUR - Turbidez

UFES – Universidade Federal do Espírito Santo

VAR - Variância

LISTA DE FIGURAS

Figura 3.1 - Modelo de formação do biofilme.....	26
Figura 3.2 - Relações entre colônias de MRS.....	28
Figura 3.3 - Bioquímica da redução do sulfato.....	31
Figura 3.4 - Cadeia de transferência de elétrons em <i>Desulfovibrio</i>	32
Figura 3.5 - Recuperação secundária do petróleo.....	35
Figura 4.1 - Duto “A”	50
Figura 4.2 - Duto “B”.....	50
Figura 4.3 - Duto “C”.....	50
Figura 4.4 - Esquema Simplificado da unidade de óleo T5 com os respectivos pontos de amostragem.....	51
Figura 4.5 - Esquema Simplificado da unidade de gás e unidade de óleo T3 com os respectivos pontos de amostragem.....	52
Figura 4.6 - Montante do Duto B.....	54
Figura 4.7 - Jusante do Duto B.....	54
Figura 4.8 - Montante do Duto A.....	54
Figura 4.9 -Jusante do Duto A.....	54
Figura 4.10 - Montante do Duto C.....	54
Figura 4.11 - Jusante do Duto C (resíduo).....	54
Figura 4.12 - Saída de água em T4.....	55
Figura 4.13 - Saída de água em T6.....	55
Figura 4.14: Coleta para análise de OD	55
Figura 4.15: Comparação Visual da análise de OD.....	55
Figura 4.16: Coleta para análise de sulfeto	55
Figura 4.17: Adição de reagentes na análise de sulfeto.....	55
Figura 4.18: Análise de ferro solúvel	56
Figura 4.19: Comparação Visual da análise de ferro.....	56
Figura 4.20: Coleta de óleo.....	56
Figura 4.21: Inoculação de amostra líquida em frascos.....	56
Figura 4.22: Inoculação de resíduo em frascos.....	56
Figura 4.23: Crescimento de MRS pelo método tradicional.....	60
Figura 4.24: Crescimento de BANHT pelo método tradicional.....	60
Figura 4.25: Crescimento de MRS pelo método alternativo.....	61
Figura 4.26: Crescimento de BANHT pelo método alternativo.....	61

Figura 5.1: Enumeração de NMP de MRS/mL pelo método tradicional, respectivamente para cada ponto de amostragem.....	67
Figura 5.2: Enumeração de NMP de MRS/mL pelo método de microplacas de 96 poços, respectivamente para cada ponto de amostragem.....	67
Figura 5.3: Enumeração de NMP de BANHT/mL pelo método tradicional, respectivamente para cada ponto de amostragem.....	68
Figura 5.4: Enumeração de NMP de BANHT/mL pelo método de microplacas de 96 poços, respectivamente para cada ponto de amostragem.....	68
Figura 5.5: Comparação de NMP de MRS/mL entre o Método tradicional (T) e o Método de microplacas de 96 poços (M7), respectivamente para cada ponto de amostragem.....	69
Figura 5.6: Comparação de NMP de MRS/mL entre o Método de microplacas de 96 poços (M7) e Método de microplacas de 96 poços (M28), respectivamente para cada ponto de amostragem.....	70
Figura 5.7: Comparação de NMP de BANHT/mL entre o Método tradicional (T) e o Método de microplacas de 96 poços (M7), respectivamente para cada ponto de amostragem.....	71
Figura 5.8: Comparação de NMP de BANHT/mL entre o Método de microplacas de 96 poços (M7) e o Método de microplacas de 96 poços (M28), respectivamente para cada ponto de amostragem.....	72
Figura 5.9: Comparação entre NMP de MRS/mL e NMP de BANHT/mL pelo método tradicional (T), respectivamente para cada ponto de amostragem.....	73
Figura 5.10: Comparação entre NMP de MRS/mL e NMP de BANHT/mL pelo método de microplacas de 96 poços (M7), respectivamente para cada ponto de amostragem.....	74
Figura 5.11: Valores médios e desvio padrão para o oxigênio dissolvido (Letras distintas indicam diferença significativa pelo teste de Tukey a 5% de significância, n = 6). Campanha no período de maio à dezembro de 2011.....	81
Figura 5.12: Comparação de pH, condutividade e NMP de MRS/mL pelo Método tradicional (T) e Método de microplacas de 96 poços (A7), respectivamente para cada ponto de amostragem.....	82
Figura 5.13: Valores médios e desvio padrão para SST e SSV (Letras distintas indicam diferença significativa pela ANOVA (teste de Friedmann) a 5% de significância para n=6). Campanha no período de maio à dezembro de 2011.....	84
Figura 5.14: Valores médios e desvio padrão para ST e STV (Letras distintas indicam diferença significativa pelo teste de Tukey a 5% de significância para n=6). Campanha no período de maio à dezembro de 2011.....	84
Figura 5.15: Valores médios e desvio padrão para a dureza (Letras distintas indicam diferença significativa pelo teste de Tukey a 5% de significância para n=6). Campanha no período de maio à dezembro de 2011.....	86

Figura 5.16: Valores médios e desvio padrão para a alcalinidade (Letras distintas indicam diferença significativa pela ANOVA (teste de Friedman) a 5% de significância para n=6). Campanha no período de maio à dezembro de 2011.....	87
Figura 5.17: Valores médios e desvio padrão para sulfato e sulfeto (Letras distintas indicam diferença significativa pelo teste de Tukey a 5% de significância para n=6). Campanha no período de maio à dezembro de 2011.....	89
Figura 5.18: Valores de sulfato (mg/L), sulfeto (mg/L) e NMP de MRS/mL pelo Método tradicional (T) e Método de microplacas de 96 poços (M7), respectivamente para cada ponto de amostragem.....	90
Figura 5.19: Valores médios e desvio padrão para Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO). Letras distintas indicam diferença significativa pelo teste de Tukey a 5% de significância para n=6. Campanha no período de maio à dezembro de 2011.....	92
Figura 5.20: Valores médios e desvio padrão para Demanda Química de Oxigênio (DQO). Letras distintas indicam diferença significativa pelo teste de Tukey a 5% de significância para n=6. Campanha no período de maio à dezembro de 2011.....	92
Figura 5.21: Comparação entre os variáveis DQO, DBO, Sulfato e NMP de MRS/mL pelo método de microplacas de 96 poços (M7), respectivamente para cada ponto de amostragem.....	94

LISTA DE TABELAS

Tabela 3.1 Parâmetros de caracterização da água produzida.....	39
Tabela 3.2: Métodos avançados de recuperação de água produzida.....	40
Tabela 3.3: Quantitativo de MRS em diferentes ambientes analisados pela técnica de Número Mais Provável (NMP).....	44
Tabela 3.4: Mecanismos de Controle e Prevenção do <i>Souring</i>	48
Tabela 4.1: Composição do Meio Postgate B Modificado para MRS.....	57
Tabela 4.2: Composição do meio para BANHT.....	58
Tabela 4.3: Composição da solução redutora.....	58
Tabela 4.4: Tabela de NMP/mL usando 16 poços por diluição.....	61
Tabela 4.5: Parâmetros Físico-Químicos para análise da água produzida.....	64
Tabela 5.1: Enumeração de Microrganismos Redutores de Sulfato (MRS) e Bactérias Anaeróbias Heterotróficas Totais (BANHT) nos diversos pontos amostrais pelo método tradicional e método de microplacas de 96 poços. Valores em NMP/mL (média geométrica) e n=6 (maio a outubro de 2011).....	76

LISTA DE QUADROS

Quadro 4.1: Localização dos pontos de amostragem em suas unidades de produção de petróleo e gás.....	53
Quadro 4.2 : Datas das coletas.....	54
Quadro 5.1: Relação DQO/DBO.....	93

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	20
2. OBJETIVOS.....	22
2.1. Geral.....	22
2.2. Específicos.....	22
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	23
3.1. Corrosão Influenciada Microbiologicamente	23
3.2. Biofilme.....	25
3.3. Microrganismos Promotores da CIM.....	27
3.3.1. Microrganismos relacionados com o Enxofre ou seus Compostos.....	27
3.3.2 Caracterização e metabolismo das bactérias redutoras de sulfato.....	28
3.4. Sistemas de Produção de Petróleo.....	33
3.4.1 Processamento primário de fluidos.....	33
3.4.2 Recuperação secundária e o desenvolvimento do souring.....	35
3.4.3. Características Físico-Químicas da água produzida.....	38
3.4.4. Processos de Tratamento da água produzida.....	39
3.4.5. Destino da água produzida.....	41
3.5. Biocorrosão em Dutos e Tanques de Petróleo.....	42
3.6. Detecção e Monitoramento da Biocorrosão.....	44
3.7. Métodos de Prevenção e Controle da CIM.....	47
4. METODOLOGIA.....	49
4.1 Escolha dos locais com Potencial de Biocorrosão.....	49
4.1.1 Área de estudo.....	49
4.1.2 Amostragem e condicionamento.....	53
4.2. Caracterização Microbiológica.....	56
4.2.1 Meios de Cultivo e Solução de Diluição para MRS e BANHT.....	56
4.2.2 Enumeração do NMP de MRS/mL e NMP de BANHT/mL pelo Método tradicional (COCHRAN, 1950) e Método de microplacas de 96 poços.....	59
4.2.3 Comparação do Método tradicional (COCHRAN, 1950) e Método de microplacas de 96 poços para MRS e BANHT.....	62
4.2.4 Análises Estatísticas.....	62
4.3 Verificação da Influência das Variáveis Físico-Químicas no Crescimento Microbiano dos MRS e BANHT.....	63

4.3.1	Caracterização Físico-Química.....	63
4.3.2	Análises Estatísticas.....	64
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	66
5.1.	Escolha dos locais com Potencial de Biocorrosão.....	66
5.2.	Caracterização Microbiológica.....	66
5.2.1	Enumeração do NMP de MRS/mL e NMP de BANHT/mL pelo Método tradicional (Cochran, 1950) e Método de microplacas de 96 poços	66
5.2.2	Comparação entre o NMP de MRS/mL e BANHT/mL pelo método tradicional (Cochran, 1950) e Método de microplacas de 96 poços (7 ^o dia).....	73
5.2.3	Análises Estatísticas.....	74
5.3	Verificação da Influência das Variáveis Físico-Químicas no Crescimento Microbiano dos MRS e BANHT.....	80
5.3.1	pH, Temperatura, Oxigênio Dissolvido e Condutividade.....	81
5.3.2	Turbidez, Teor de Óleos e Graxas (TOG) e Sólidos.....	83
5.3.3	Ferro, Salinidade, Dureza e Alcalinidade.....	86
5.3.4	Sulfato e Sulfeto.....	88
5.3.5	Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO) e Demanda Química de Oxigênio (DQO).....	91
5.3.6.	Matriz de correlação entre os Parâmetros Físico-Químicos e Microbiológicos.....	95
5.3.6.1	Matriz de Correlação para P2 – MRS e BANHT.....	95
5.3.6.2	Matriz de Correlação para P4 – MRS e BANHT.....	96
5.3.6.3	Matriz de Correlação para P8 – MRS e BANHT.....	96
5.3.6.4	Matriz de correlação P9 – MRS e BANHT.....	96
6.	CONCLUSÃO.....	98
7.	RECOMENDAÇÕES.....	98
8.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	100
9.	APÊNDICES.....	112
	Apêndice I - Estatística Descritiva dos parâmetros físico-químicos.....	112
	Apêndice II –Resultados da análise de MRS e BANHT em todos os pontos de amostragem, através do método tradicional e método de microplacas de 96 poços (Dados Brutos).....	113
	Apêndice III – Correlação entre as variáveis físico-químicas e microbiológicas pelo método tradicional e o método alternativo (7^o dia) para análise de contagem de MRS.....	117
	Apêndice IV – Testes Estatísticos.....	124
10.	ANEXOS.....	127

Anexo I – Cálculo do NMP/100 mL utilizando regime de três tubos inoculados com 10, 1.0 e 0.1 mL da amostra.....	127
--	------------

1. INTRODUÇÃO

A produção de Petróleo e Gás é acompanhada de uma significativa produção de água, conhecida como água de produção, sendo que seu volume pode chegar a exceder dez vezes o volume de produção de óleo durante a vida produtiva de um poço de petróleo (HENDERSON et al., 1999). As águas de produção possuem características tóxicas e sua composição pode variar em função do tipo de campo e da sua idade, origem e qualidade do óleo, assim como do procedimento usado para sua extração (STEPHENSON, 1991). No Brasil a exploração *offshore* (fora da costa) de petróleo está em pleno desenvolvimento e o desenvolvimento do *souring* biogênico (produção excessiva de H₂S) tem se tornado um dos maiores problemas relacionado à biocorrosão devido ao aumento do uso da água do mar como meio de recuperação secundária do petróleo (FARQUHAR, 1997).

Os MRS são procariontes, representados pelo domínio das bactérias e arqueias (BARTON; HAMILTON, 2007). Por isso, pode-se designar o grupo como Microrganismos Redutores de Sulfato (MRS), denominação atual do grupo das Bactérias Redutoras de Sulfato (BRS) (CARVALHO et al., 2007). Marques e Soares (2002) afirmam que a maioria dos MRS possui a habilidade de reduzir o sulfato, gerando H₂S, que é um gás extremamente tóxico e corrosivo, portanto é agressivo para elementos metálicos que compõem o poço e demais equipamentos do sistema de produção de petróleo.

A CIM (Corrosão Influenciada Microbiologicamente) é constituída pelo consórcio de diversos microrganismos, destacando-se os Microrganismos Redutores de Sulfato dado sua relevância na constituição do biofilme promotor dos problemas associados à biocorrosão. Os MRS são o grupo bacteriano amplamente pesquisado em águas de sistemas de petróleo, pois contribuem para o desenvolvimento da biocorrosão que gera um custo elevado na manutenção de equipamentos e materiais de sistemas de produção de petróleo (LIMA; GONÇALVES; CASSINI, 2005).

As principais conseqüências da ação dos MRS em campos de petróleo estão relacionadas à potencialização do *souring*, à corrosão dos dutos de injeção de água

nos reservatórios e de transporte de fluidos, tanques de armazenamento de petróleo, assim como a possível obstrução da formação rochosa. Isso implica na queda da produção de petróleo, na redução da qualidade do óleo comercializado, com conseqüente desvalorização do mesmo no mercado, assim como possíveis danos à saúde do trabalhador pela exposição ao H₂S gerado e ao meio ambiente.

O desenvolvimento de métodos rápidos e simplificados de detecção e enumeração de MRS em ambientes naturais e industriais tem sido estudado pelos pesquisadores. Em geral, os métodos de enumeração de MRS podem ser divididos em detecção direta e métodos de cultura. Os métodos de cultura para o crescimento dos microrganismos são amplamente difundidos. Os métodos de detecção direta são mais recentes e ainda estão em fase de desenvolvimento, devido a algumas limitações em grande parte pela complexidade e custo elevado (VESTER; INGVORSEN, 1998). Assim, a escolha do método mais adequado deve considerar o custo da análise, os equipamentos disponíveis, a necessidade de qualificação de pessoal e principalmente o tempo necessário para a obtenção de resultados, a fim de que as decisões sejam implementadas efetivamente em tempo hábil, visando o controle e/ou a prevenção da CIM.

Os métodos de contagem para bactérias anaeróbias requerem redução do tempo de incubação das bactérias para que o diagnóstico da biocorrosão seja mais rápido, reduzindo custos para o monitoramento e controle dos mesmos. Portanto, o método de microplacas de 96 poços para enumeração de MRS por meio da técnica de Número Mais Provável (NMP) foi proposto por LIMA (2006) tendo em vista que a utilização de microplacas não descartáveis ao longo do tempo reduz significativamente o custo global das análises aliado ao uso da terça parte do volume de meio normalmente utilizado pelo método tradicional. Além disso, o método tem a vantagem da economia de espaço físico, de reagentes, facilidade na manipulação em laboratório e redução dos custos da indústria.

2. OBJETIVOS

2.1 Geral

Avaliar uma nova metodologia de detecção e contagem de Microrganismos Redutores de Sulfato (MRS) em amostras do sistema de produção de petróleo e gás.

2.2 Específicos

- Detectar e enumerar a presença de Microrganismos Redutores de Sulfato (MRS) e Bactérias Anaeróbias Heterotróficas Totais (BANHT) em dutos e tanques do sistema de produção de petróleo e gás pelo método tradicional com 28 dias de incubação e método de microplacas de 96 poços em 7 dias de incubação;
- Comparar o método tradicional com o método de microplacas de 96 poços para a contagem de Microrganismos Redutores de Sulfato (MRS) e Bactérias Anaeróbias Heterotróficas Totais (BANHT) em amostras do sistema de produção de petróleo e gás;
- Verificar a influência das variáveis físico-químicas no crescimento microbiano dos Microrganismos Redutores de Sulfato (MRS) e Bactérias Anaeróbias Heterotróficas Totais (BANHT).

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Corrosão Influenciada Microbiologicamente

A partir da década de 1980 surgiu a denominação CIM (Corrosão Influenciada Microbiologicamente) que tem sido amplamente utilizada pelos pesquisadores. A reação clássica de corrosão eletroquímica permanece válida para a CIM (FORD; MITCHELL 1990; De BRUYN, 1992, VIDELA, 2003). A CIM ou biocorrosão pode ser definida como a deterioração de metais sob condições aeróbias ou anaeróbias devido à atividade direta ou indireta dos microrganismos (SCOTTO; MOLLICA, 2000) denominados genericamente de Bactérias Redutoras de Sulfato (BRS) ou Microrganismos Redutores de Sulfato (MRS). A denominação BRS é histórica, enquanto a definição MRS engloba o grupo das bactérias e arqueias que também constituem os microrganismos participantes da CIM.

Os microrganismos desempenham o papel na biocorrosão por meio do auxílio no estabelecimento da célula eletrolítica (forma indireta) ou pelo estímulo das reações anódica ou catódica. As reações anódica e catódica devem sempre permanecer em equilíbrio na célula eletrolítica, pois, em condições aeróbias ocorre o fornecimento contínuo de oxigênio para o catodo e a remoção dos óxidos de ferro e hidróxidos insolúveis no anodo (HAMILTON, 1985; VIDELA, 2003).

Na CIM é formada uma região anaeróbia sob a colônia em função do consumo de oxigênio pela respiração dos microrganismos aeróbios, assim como uma região mais oxigenada na parte externa da colônia, em contato com o meio líquido aerado. A reação no catodo pela corrosão microbiológica é igual a que ocorre na corrosão inorgânica, porém, a diferença está na manutenção do gradiente de concentração de oxigênio pelos processos respiratórios dos microrganismos. Este gradiente acelera ativamente a reação de corrosão via catodo enquanto a respiração estiver ativa, pois em caso de morte dos microrganismos o processo de aeração diferencial continuará preservado devido à existência de gradientes menores entre a parte inferior do depósito e sua parte externa (VIDELA, 2003).

Nas instalações industriais, a biocorrosão ocorre a partir de consórcios complexos microbianos que interagem com as superfícies metálicas onde há atuação de diferentes tipos de bactérias (JAN-ROBLERO et al., 2004). Nas últimas décadas, vários problemas de cunho econômico e ambiental nas indústrias têm sido atribuídos aos microrganismos causadores da CIM (VIDELA; HERRERA, 2005). Para França (2006) o custo global da biocorrosão é avaliado em aproximadamente 4% do Produto Nacional Bruto dos países industrializados.

Dentre os microrganismos mais associados a danos ocasionados pela biocorrosão podem-se destacar as bactérias redutoras de sulfato (BRS) (VIDELA, 2003). Por isso, em sistemas industriais, é fundamental verificar se o meio em questão possui as condições ideais para o seu crescimento. Dentre estas condições destaca-se: temperaturas de 20 à 50°C, exceto para termófilas; pH entre 4,5 e 9; presença de carbono, nitrogênio, fósforo e nutrientes essenciais, dentre outros. Sob estas condições, Lee et al. (1995) consideram os seguintes fatores para a ocorrência e o desenvolvimento da CIM: transporte e acúmulo de materiais solúveis ou particulados do líquido para a superfície do metal; processos de transformação eletroquímica e microbiológica no interior do biofilme e da superfície do metal; erosão e desprendimento da superfície do filme.

A temperatura do meio ambiente influencia diretamente a CIM, pois o seu aumento favorece as taxas de reação até atingirem um nível ótimo para cada espécie. Quando a temperatura sobe acima do nível ótimo, a taxa de metabolismo microbiano diminui devido à desnaturação das enzimas. Os microrganismos podem sobreviver em diferentes faixas de temperatura, sendo classificados de acordo com a sua faixa de temperatura ótima. A maioria das enzimas não resiste a temperaturas maiores que 70°C, entretanto, algumas enzimas processadas por microrganismos termofílicos permanecem ativas mesmo em temperaturas superiores a 100°C (CHILINGAR; MOURHATCH; AL-QAHTANI, 2008).

Outro fator ambiental que influencia a CIM é a concentração salina da água. A diferença na concentração do entorno e dentro do citoplasma da célula produz alterações na pressão osmótica que podem resultar em desidratação das células seguido de inibição do crescimento ou morte. Entretanto, algumas bactérias podem

tolerar baixas concentrações de sal dentro das paredes celulares, com a redução da pressão osmótica. As bactérias halófilas requerem altas concentrações de sal para o seu crescimento (CHILINGAR; MOURHATCH; AL-QAHTANI, 2008).

3.2. Biofilme

Em 1978, Costerton estabeleceu uma nova visão da vida bacteriana que divergia da microbiologia conhecida até o momento. Ele trabalhou uma diferente maneira de ver a estrutura da substância viscosa que parecia ancorar as bactérias a superfícies em estômagos de gado, e, assim, descobriu que as bactérias agem de forma diferente dentro e fora de um tubo de ensaio. As colônias bacterianas criam seus próprios microhabitat, aderindo a superfícies e cobrindo-a com uma camada viscosa de moléculas de proteção, que ele denominou biofilmes (STAMBAUGH, 2003). Biofilmes são estruturas complexas com variável distribuição de células e agregados celulares, além de polímeros extracelulares e canais que permitem a circulação da água. As estruturas formadas são heterogêneas, dinâmicas e o número de microrganismos varia a todo instante (FRANÇA, 2006).

Os processos de formação dos biofilmes na superfície metálica ocorrem numa sequência de eventos que se inicia com o contato entre o meio líquido e o metal. A formação de uma camada composta de moléculas orgânicas permite a aderência dos microrganismos presentes no líquido. As células microbianas que permanecem na superfície iniciam um processo de multiplicação e produção de EPS (exopolissacarídeos) a fim de se firmar na superfície. Com o espessamento do biofilme, superando a camada-limite de fluxo laminar, desprendem-se as camadas mais externas conforme a vazão de líquido para que ocorra o processo de renovação do biofilme. Assim, os processos de transferência de massa no biofilme contaminam o meio líquido com partículas biológicas (metabólitos e materiais de lise celular) e partículas inorgânicas (produtos de corrosão) (VIDELA, 2003) (Figura 3.1). Vale destacar que na fase inicial de aderência do biofilme, as colônias de microrganismos são constituídas, em sua maioria, por uma película gelatinosa de fácil remoção. Após algum tempo há probabilidade das camadas externas sofrerem mineralização, formando tubérculos duros, com dificuldades em sua remoção contribuindo para o desenvolvimento de outros microrganismos (FRANÇA, 2006).

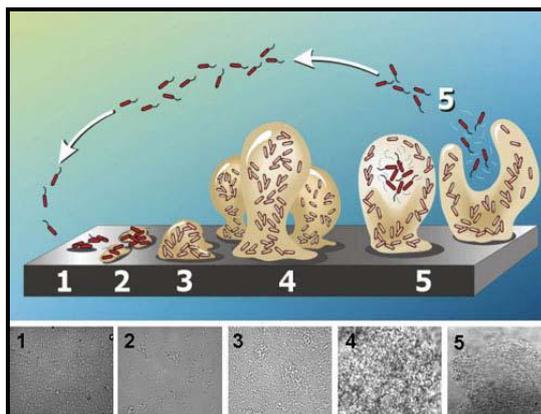


Figura 3.1: Modelo de formação do biofilme

Fonte: Blicq (2008); Legenda: 1- formação do biofilme, 2- adesão, 3- produção de EPS, 4- espessamento, 5- desprendimento

O desenvolvimento de biofilmes está diretamente relacionado a parâmetros, tais como: variações de temperaturas conforme o clima ou a estação do ano, velocidade do vento e a duração do dia, taxa de fluxo de água pela superfície, disponibilidade de nutrientes, rugosidade da superfície, pH neutro da água, ausência de oxigênio, presença de material particulado aprisionado dentro do biofilme, que oferece pontos de ligação adicionais, além da efetividade nas medidas de controle da bioincrustação, como limpeza e sanitização (COETSER; CLOETE, 2005; GENTIL, 2003).

Estudos em dutos contendo água do mar mostraram valores máximos de bactérias aeróbias e anaeróbias em fluxo de água com velocidade de 3,6cm/s, que caracteriza o fluxo laminar e favorece o crescimento das células sésseis. Os resultados também mostraram que sob condições de turbulência, o número de microrganismos decresceu consideravelmente em relação aos valores obtidos sob fluxo laminar (FRANÇA; CRAVO JR, 2000).

Videla (2003) ressalta a importância do conhecimento de todo o processo de formação de biofilmes para evitar problemas de corrosão, tais como, a seleção do local para efetuar a detecção da presença de microrganismos; certificação da origem biológica do ataque corrosivo, isolamento e identificação das espécies e verificação das características do ataque de acordo com a composição físico-química do meio vizinho e as condições operacionais do sistema, realizar tratamento de limpeza do

sistema, promover o controle e manutenção de níveis baixos de células planctônicas e sésseis, assim como de sólidos em suspensão.

A corrosão e o desgaste ocasionado pelos biofilmes podem causar danos consideráveis. A incrustação pela criação de uma biomassa morta e de uma fonte de nutrientes leva ao re-crescimento de organismos na água e a destruição prematura dos materiais minerais (COETSER; CLOETE, 2005). Nos Estados Unidos da América, por exemplo, os problemas decorrentes da formação de biofilmes na indústria custam bilhões de dólares todos os anos, devido aos processos de incrustação nas tubulações (STAMBAUGH, 2003). O Brasil também gasta anualmente milhões de dólares devido à ocorrência de corrosão nos sistemas industriais ocasionando sérios prejuízos econômicos (FRANÇA, 2006).

3.3. Microrganismos Promotores da CIM

O processo de biocorrosão ocorre a partir da participação de vários tipos de microrganismos, direta ou indiretamente, que englobam grupos microbianos de diferentes espécies com características em comum. A seguir, serão apresentados apenas os grupos comumente isolados e reconhecidamente envolvidos em casos de CIM.

3.3.1. Microrganismos relacionados com o Enxofre ou seus Compostos

Diferentes grupos microbianos, bactérias, fungos e algas, podem ser promotores dos processos de CIM (VIDELA, 2003). Dentre as bactérias, destaca-se o grupo das bactérias redutoras de sulfato (BRS). Atuantes no ciclo do enxofre estão envolvidas em 95% dos casos de biocorrosão (HAMILTON, 1985). Para Decker (1986) há fortes evidências sobre a relação das BRS e sua ação conjunta com as colônias de outros microrganismos. Se os organismos anaeróbios no ciclo do enxofre estiverem envolvidos no meio com microrganismos aeróbios, as reações de corrosão serão perpetuadas (Figura 3.3). Os microrganismos aeróbios, como *Thiobacillus* e *Gallionella*, podem consumir O_2 na superfície do biofilme para proteger as BRS contra esta ameaça. Além disso, *Thiobacillus* podem reverter H_2S para H_2SO_4 ao completar o ciclo de S e fornecer uma corrosão mais agressiva ao metal.

enzimas e só ocorre, portanto, por períodos curtos de tempo (DILLING; CYPIONKA, 1990).

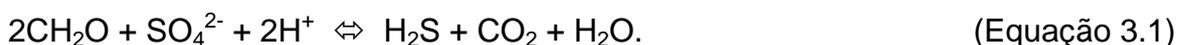
A classificação destes microrganismos baseia-se na análise da seqüência de 16S rRNA, que define o táxon, o gênero e a espécie destes microrganismos. Segundo Mori et al. (2003) os MRS são filogeneticamente divididos em 4 linhagens bacterianas e 2 linhagens de arqueias termofílicas. Para Postgate (1979) os MRS podem ser classificados em 4 grupos: mesófilos Gram-Negativos, Gram-Positivos formadores de esporos, eubactérias termófilas Gram-negativas e arqueobactérias termófilas Gram-negativas.

A maioria dos MRS possui ampla distribuição com capacidade de sobreviver em ambientes aquáticos e terrestres. Eles podem ser encontrados em solos, águas doces, marinhas, salobras, nascentes de água quente, áreas geotérmicas, poços de óleo e gás natural, depósitos de enxofre, manguezais, entre outros. Contudo, são limitados ecologicamente porque necessitam de adaptações consideráveis de temperatura e salinidade para sobreviver (POSTGATE, 1979). Conforme Rabus (2000), os locais de prevalência dos MRS consistem em sedimentos de ambientes aquáticos, com variação de temperatura desde muito baixas até geotermicamente elevadas, atingindo mais de 105°C. Segundo Postgate (1979), Kleimkemper (2000), também já foram encontrados MRS em diversos ambientes, como em plantas de purificação anaeróbia, plantas de lodo, em águas produzidas de petróleo, ambientes contaminados por derivados do petróleo, entre outros.

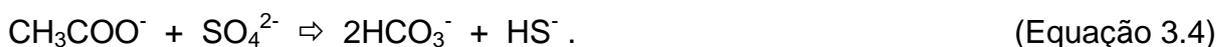
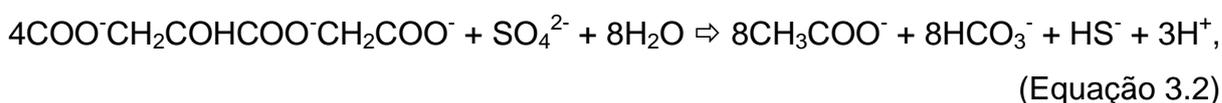
Uma característica importante dos MRS está relacionada à sua adaptabilidade a diferentes temperaturas. Eles toleram temperaturas entre -5°C e 75°C e podem adaptar-se para novas condições de temperatura. Em média, o crescimento dos MRS mesófilos é lento, ao longo de vários dias a 30°C. As bactérias termófilas crescem mais rapidamente, a 55°C, geralmente entre 12 e 18 horas. Uma razão para o crescimento lento das mesófilas é o H₂S, produto da respiração, que reduz a taxa de crescimento. Essas bactérias também podem crescer no vácuo ou em água com pressões abaixo de 10⁵ Kpa, toleram pH entre 5 e 9,5 e uma ampla faixa de condições osmóticas, assim como um baixo potencial redox (POSTGATE, 1979).

A principal característica dos MRS pode ser considerada a utilização do sulfato como aceptor de elétrons terminal, reduzindo-o a sulfeto, apesar de algumas poucas espécies, reduzirem o enxofre a sulfeto. Postgate (1979) afirma que a redução desassimilatória do sulfato é o tipo de oxidação essencial do metabolismo dos MRS, por isso definiu o termo MRS para essa classe de microrganismos. Neste contexto, uma pequena quantidade de enxofre reduzido é assimilada pelo organismo, mas praticamente tudo é liberado no ambiente externo como íon sulfeto.

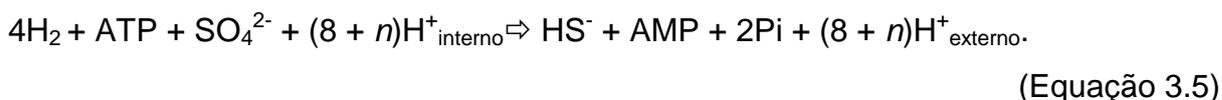
O Processo de redução do sulfato, segundo Gibert et al. (2002), pode ser representado pela equação simplificada global (EQUAÇÃO 3.1), onde CH₂O representa um composto orgânico:



A degradação incompleta de fontes de carbono como o citrato (COO⁻CH₂COHCOO⁻CH₂COO⁻) e o lactato (CH₃CHOHCOO⁻) a acetato (CH₃COO⁻) (Equação 3.2 e 3.3) e a degradação do acetato (Equação 3.4) foram obtidas através das seguintes reações estequiométricas (KLEIKEMPER et al., 2002):



A reação global gera a reação abaixo (Equação 3.5), utilizada no processo metabólico dos MRS: (VOORDOUW, 1995):



O processo assimilativo e o desassimilativo de sulfato iniciam-se com a ativação dos íons sulfato por Trifosfato de Adenosina (ATP) (Figura 3.5). Na redução assimilativa, a enzima ATP sulfurilase catalisa a ligação do íon sulfato ao fosfato da molécula de

ATP, formando adenosina fosfosulfato (AFS) com a liberação de pirofosfato (PPi). Na redução desassimilativa, a AFS é reduzida a sulfito (SO_3^{2-}) pela ação da enzima AFS redutase, com a liberação de AMP (adenosina monofosfato). Na redução assimilativa, outro P é incorporado a AFS, formando fosfoadenosina fosfosulfato (FAFS) e, então, os sulfatos são reduzidos. Em ambos os processos, o sulfito é o primeiro produto da redução, sendo posteriormente transformado em sulfeto por ação da enzima sulfito redutase (MADIGAN; MARTINKO; PARKER, 2004).

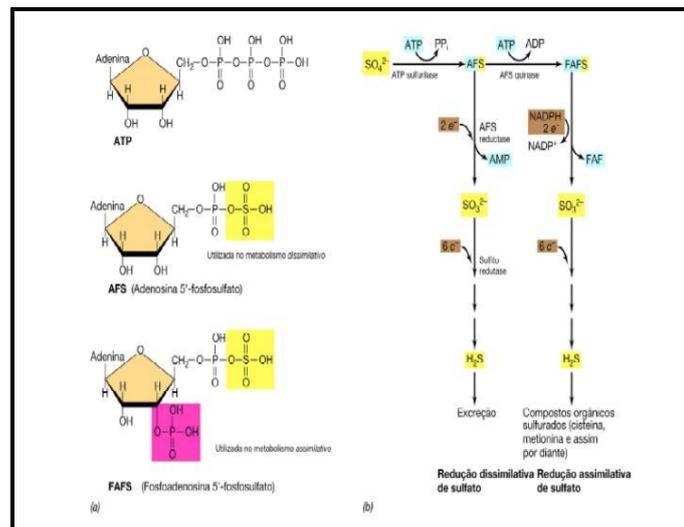


Figura 3.3: Bioquímica da redução do sulfato

Fonte: Madigan, Martinko e Parker (2004)

Legenda: (a) Ativação dos íons sulfato por ATP: adenosina 5'-fosfosulfato (AFS) e fosfoadenosina 5'-fosfosulfato (FAFS) (b) Reduções assimilativa e desassimilativa ou dissimilativa de sulfato

A redução do sulfato pelos MRS ocorre com no mínimo quatro enzimas citoplasmáticas governando as reações (POSTGATE, 1979; POSTGATE, 1984; OLDOM; PECK, 1984): ATP sulfurilase (Equação 3.6), a pirofosfatase (Equação 3.7), adenil sulfato redutase (Equação 3.8) e a bisulfito redutase (Equação 3.9). A seguir estão apresentadas as sequências de reações referentes às respectivas enzimas citoplasmáticas mencionadas:



Postgate (1979) sugeriu o mecanismo de conversão inicial do sulfito a metabissulfito ($S_2O_5^{2-}$) com conseqüente redução a tritionato ($S_3O_6^{2-}$). Durante essa conversão são formados alguns intermediários, como o ditionato ($S_2O_4^{2-}$). Parte do tritionato seria convertida a tiosulfato ($S_2O_3^{2-}$) e parte se regeneraria a sulfito. A última etapa é a redução do tiosulfato ao sulfeto, que pode converter-se novamente a sulfito.

O processo de redução desassimilativa consiste em parte pela utilização do hidrogênio. Quando o ferro metálico (Fe^0) está imerso em água, traços de metal se dissolvem espontaneamente como Fe^{2+} , deixando cargas negativas na superfície do metal. Na ausência de oxigênio, os elétrons deixados na superfície do metal podem reduzir prótons, a partir de sua dissociação na água para o hidrogênio, que permanece na superfície do ferro (PADILLA-VIVEROS; GARCIA-OCHOA; ALAZARD, 2006). O hidrogênio sai do citoplasma em direção ao espaço periplasmático e interage com a hidrogenase presente na membrana plasmática (hidrogenase Ni-Fe) gerando elétrons e prótons (formam um gradiente eletroquímico permitindo formar ATP via ATPase) (CHOI; CHASE JR.; BARTHA, 1994).

O principal carreador de elétrons do sulfato é o citocromo c3 (citocromo periplasmático), transferindo os elétrons (Figura 3.6) para um complexo protéico (Hmc) aderido à membrana plasmática, que os transporta até o interior da célula, disponibilizando-os para as enzimas ATP sulfurilase e sulfito redutase que permitem a redução do sulfato até sulfeto, que saem da célula como sulfeto de hidrogênio (MADIGAN; MARTINKO; PARKER, 2004).

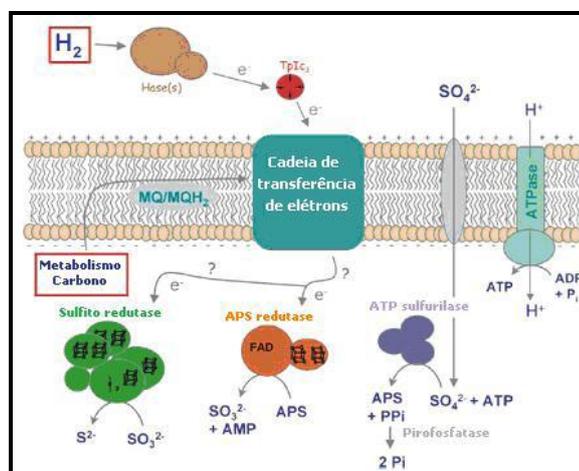


Figura 3.4: Cadeia de transferência de elétrons em *Desulfovibrio*
Fonte: Matias et al. (2005)

Os MRS podem utilizar vários compostos inorgânicos sulfurados como aceptores de elétrons. Aproximadamente 20 gêneros de MRS reduzem sulfato ou compostos reduzidos de enxofre (sulfito e tiosulfato), por isso é possível classificá-los em dois grandes grupos: Grupo 1 – Uso do lactato, piruvato, etanol, determinados ácidos graxos e o produto final da oxidação é o acetato, destacando-se os gêneros *Desulfovibrio*, *Desulfobotulus*, *Desulfotomaculum*, *Desulfobulbus* e *Thermodesulfobacterium*; Grupo 2 - Utilizam ácidos graxos, particularmente o acetato, na redução do sulfato a sulfeto, representados pelos gêneros *Desulfobacter*, *Desulfobacterium*, *Desulfococcus*, *Desulfonema* e *Desulfosarcina*. A diferença fundamental entre esses grupos está na capacidade dos indivíduos do Grupo 2 em oxidar completamente ácidos graxos, lactato, succinato e benzoato até CO₂. A redução da disponibilidade de ferro para o metabolismo dos MRS afetará o transporte de elétrons na célula, visto que o mesmo constitui um componente das ferredoxinas e citocromos. Essa redução acontece devido ao fenômeno de inibição dos MRS por sulfeto, que ao reagir com os metais irá precipitar na forma de sulfetos metálicos, produzindo sulfeto de ferro (FeS), ficando indisponível para o transporte dos elétrons (MADIGAN; MARTINKO; PARKER, 2004).

A concentração mínima inibitória/tóxica de sulfeto para os MRS pode estar relacionada às condições de temperatura, pH, pressão e concentração de íons fósforo. Cabe destacar que concentrações próximas de 544 mg/L de sulfeto podem inibir o crescimento e a velocidade de reprodução de MRS (BARTON; TOMEI, 1995). A toxicidade do sulfeto encontra-se na faixa de 150 mg/L até 300 mg/L, conforme o estado e o gênero da bactéria (planctônica ou sésil). Este valor está relacionado ao sulfeto não dissociado, que é dependente dos valores de pH (DUNSMORE; EVANS, 2005).

3.4 Sistemas de Produção de Petróleo

3.4.1. Processamento primário de fluidos

O processamento primário de fluidos de petróleo consiste na separação do óleo, gás e água do fluido proveniente do reservatório. Segundo Thomas (2004) o tipo de fluido produzido pelo reservatório irá influenciar diretamente na viabilidade técnico-

econômica da planta de processamento primário. As plantas mais simples realizam apenas a separação óleo/gás/água e as mais complexas efetuam o condicionamento e a compressão do gás, tratamento e estabilização do óleo, além do tratamento da água para reinjeção ou descarte.

O tratamento primário do óleo consiste na separação água-óleo. Grande parte da água associada ao petróleo é separada por decantação da água livre nos separadores. A fração da água que permanece emulsionada requer um tratamento físico e às vezes, até um tratamento químico. O óleo é estabilizado nos separadores e segue para o tratamento até ser transportado por oleodutos para comercialização. São necessários teores de água e sedimentos de até 1% no óleo para atingir os níveis aceitáveis de transferência, conforme recomenda a Portaria Conjunta ANP-INMETRO nº. 01 de 19 de junho de 2000. Estas condições são estabelecidas a fim de evitar problemas nos processos posteriores e também preservar os equipamentos do sistema contra a corrosão promovida pelo ataque microbiológico em função da água presente no meio (BRASIL, 2000).

O gás pode ser queimado ou condicionado em sistemas de compressão, desidratação e remoção de gases, quando necessário, para ser utilizado na estação, campo de produção ou mesmo ser escoado pelos gasodutos e destinado ao mercado (GABARDO, 2007). A desidratação do gás natural pode ocorrer por processos de absorção ou adsorção. A absorção se dá em um vaso onde o gás flui em contracorrente com uma solução de glicol (poder higroscópico), sendo posteriormente regenerado por aquecimento e devolvido ao sistema. A adsorção é realizada a partir de materiais de grande área superficial e afinidade pela água, como a alumina, sílica-gel e as peneiras moleculares (alumino-silicatos). De forma semelhante, o adsorvente também será regenerado pelo calor (THOMAS, 2004).

No tratamento do gás é realizada a remoção de H_2S e/ou CO_2 , processo conhecido por adoçamento. A retirada se faz necessária devido a questões de segurança e toxicidade no caso do H_2S , e no caso do CO_2 em função desta molécula reduzir o poder calorífico do gás natural ou do gás combustível (BARBOSA, 2010). Atualmente, várias tecnologias de tratamento de gás estão comercialmente

disponíveis, sob a forma de diferentes solventes químicos e físicos, membranas, adsorção, entre outras (BERGEL; TIERNO, 2009). Dentre estas tecnologias, os processos químicos reversíveis que utilizam soluções de aminas são os mais utilizados (THOMAS, 2004).

O processo de extração de petróleo e gás gera uma produção significativa de água que pode ser encontrada nos reservatórios de óleo, desde a sua formação, ou associada à água subterrânea (SILVA, 2000). A água produzida é um contaminante indesejado proveniente de formações produtoras, pois contém sais, microrganismos, gases dissolvidos e materiais em suspensão, por isso deverá ser tratada para disposição adequada no meio ambiente (THOMAS, 2004).

3.4.2. Recuperação secundária do petróleo e o desenvolvimento do *souring*

A recuperação secundária do petróleo a partir da injeção de água é um método tradicional e amplamente conhecido, onde a água é injetada em um reservatório de óleo para pressurizá-lo, aumentando a recuperação após a etapa inicial de recuperação primária (Figura 3.7). Dessa forma, a injeção de água mantém a pressão no reservatório, de forma que desloque o óleo existente no poço de injeção em direção aos poços produtores. Assim, a recuperação do óleo chega a 15-30% do óleo original (FIORESE, 2004).

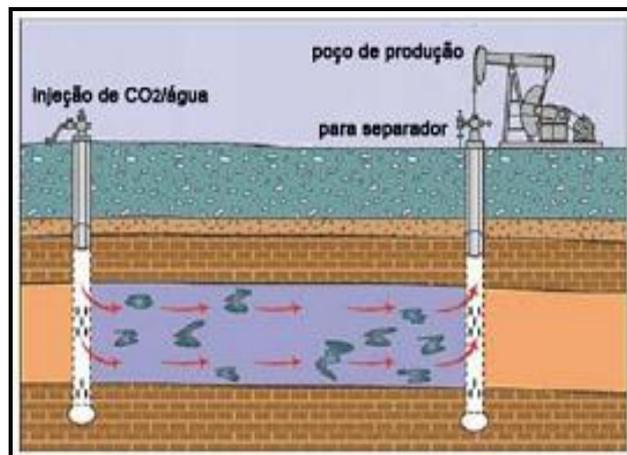


Figura 3.5: Recuperação secundária do petróleo

Fonte: USP (2011)

A injeção de água é o principal método de recuperação secundária adotado no mundo, devido a sua viabilidade econômica de obtenção. Esse método é uma das formas de disposição mais eficazes, porque apresenta excelentes resultados no deslocamento do óleo mantendo a produção de uma determinada zona (SILVA, 2000). Porém o processo de recuperação secundária promove a redução da salinidade e da temperatura da água de formação no ponto de mistura com a injeção da água do mar, conseqüentemente, estimula o crescimento microbiano ao tornar as condições do meio favorável à sua proliferação (DUNSMORE; EVANS, 2005; PENNA; OLIVEIRA; SILVA, 2003, FAUQUHAR, 1997).

Em geral, a água do mar utilizada em processos de recuperação secundária de petróleo em campos *offshore*, contém MRS adaptados a um ambiente relativamente superficial (temperaturas em torno de 20°C) e de pressão moderada. Portanto, ao ser injetada fria e desaerada, a água do mar estabelece novas condições na zona de mistura com a água de formação, reduzindo a temperatura, o pH (6,0-9,0), o potencial redox (abaixo de -100mV) e aumentando a disponibilidade de sulfato e as fontes de carbono devido à presença de hidrocarbonetos, que possibilitam a adaptação dos MRS à zona de mistura (PENNA; OLIVEIRA; SILVA, 2003).

O reuso da Água Produzida (AP) é realizado geralmente em campos marítimos devido à necessidade de disposição desta água após tratamento prévio em algum local, contudo, esta água também pode ser proveniente de aquíferos rasos, da superfície ou mesmo ser produzida durante o processo de exploração e produção do petróleo. Essa seleção ocorre a partir das características de sua composição, disponibilidade, formação e o custo necessário para a elevação e o tratamento da água, assim como as exigências legais para a sua disposição no meio ambiente. Em campos terrestres torna-se viável utilizar a água produzida como reinjeção ao invés da água do mar, tendo em vista os custos econômicos para a captação de grandes volumes de água doce e as restrições ambientais para o descarte da água produzida (SEGUI, 2009).

O desenvolvimento da acidificação biogênica, também designada de *souring*, representa um impacto considerável na produção do petróleo, visto que contribui para o aumento da biocorrosão, reduz a qualidade dos hidrocarbonetos produzidos,

afeta a produtividade dos poços pela geração de incrustantes como FeS e potencializa os riscos ambientais devido à toxicidade do sulfeto (TANG; BASKARAN; NEMAT, 2009). A formação do *souring* nas reservas petrolíferas pelo crescimento dos MRS é um dos fatores de maior interesse da indústria do petróleo, em função dos prejuízos causados pela deterioração microbiológica de materiais metálicos em função da produção excessiva de sulfeto de hidrogênio (H₂S) nos fluidos de produção (EDEN et al., 1993).

Segundo Fauqhar (1997), a geração de sulfeto por ação microbiana é a principal responsável pela formação de *souring*, como comprovam estudos realizados no Mar do Norte, por isso os mecanismos abióticos de formação de *souring* são desconsiderados com base nas seguintes afirmações: a quantidade de pirita é mínima na rocha do reservatório; a redução termoquímica do sulfato requer temperaturas na faixa de 80°C a 120°C, mesmo na presença de catalisadores. Campos de petróleo do Mar do Norte, por exemplo, apresentam temperaturas inferiores a essa faixa; a oxidação termoquímica de compostos orgânicos de enxofre ocorre a temperaturas superiores ou iguais a 80°C, sendo necessária uma quantidade mínima para que ocorra a conversão a H₂S; os níveis residuais de bissulfito de amônia presentes no sistema não são capazes de contribuir significativamente para a formação de H₂S.

A reutilização da água produzida como fluido injetor pode intensificar o *souring* em função do aumento da fonte de nutrientes que permitirá o desenvolvimento de MRS, além de reintroduzir microrganismos já adaptados às condições do reservatório (DINNING et al., 2005; SILVA, 2000). Agências como a EPA determinam valores relacionados à exposição dos humanos e animais ao gás, pois a inalação de altas concentrações de H₂S (superior a 2000 ppm ou 2780 mg/m³) pode ser fatal em poucos segundos ou minutos (EPA, 2003). A NACE (National Association Corrosion) estipula em 0,05 psi a pressão parcial máxima de H₂S em fluidos exportados (KHATIB; SALANITRO, 1997).

As Bactérias Redutoras de Sulfato também possuem aspectos ambientais positivos, tais como a utilização de subprodutos metabólicos e o seu próprio metabolismo para o tratamento de águas residuárias industriais (ALVAREZ et al., 2000) e na

biorremediação de ambientes contaminados por compostos orgânicos tóxicos (CRAVO-LAUREAU et al., 2004).

3.4.3. Características Físico-Químicas da água produzida

Os íons cloretos, sódio, cálcio, magnésio, amônia e sulfeto são os componentes de maior concentração na água produzida, pois estão dissolvidos na água, destacando-se o sulfeto que pode ter origem biogênica durante o processo de produção e a presença da amônia em função das condições geológicas da formação produtora (BRAGA, 2008).

A injeção de sólidos (partículas) no reservatório pode ter origem abiótica ou biótica e provocar a ocorrência do plugueamento dos mesmos (PENNA et al., 2002). Os MRS provocam a acidificação de petróleo e o aumento da carga de sólidos em sistemas de injeção de água que ocasiona o entupimento dos poços de injeção e permite a proliferação de biofilmes (GANA et al., 2010).

A literatura apresenta valores de salinidade da água produzida com grandes variações, desde valores baixos até a saturação; para a dureza esses valores estão entre 0,02 g/L e 7g/L e pH entre 4,5-9,0 (SOUZA, 2007; POSTGATE, 1979). Os microrganismos redutores de sulfato suportam altas variações de temperatura, seja da água produzida ou da água de formação. Por isso, encontram-se tanto espécies psicrófilas (faixa de -10°C a 20°C), quanto hipertermófilas (acima de 100°C). Em relação à nutrição, as fontes de carbono para o crescimento dos MRS constituem componentes orgânicos, substituindo ácidos graxos, como lactato, piruvato, fumarato ou malato (POSTGATE, 1979).

Vale ressaltar que o conhecimento sobre a composição da água produzida é indispensável para verificar a possibilidade de seu uso nos processos de reinjeção, assim como prever os possíveis problemas decorrentes do desenvolvimento do *souring* biogênico. Podem-se destacar os seguintes parâmetros de caracterização da água produzida (Tabela 3.1) a ser injetada nos reservatórios.

Tabela 3.1: Parâmetros de caracterização da água produzida

Parâmetros	Unidades
pH	-
Salinidade	mg/L
Distribuição iônica dos sais dissolvidos	mg/L
Teor de Óleo e Graxas	mg/L
Teor de sólidos suspensos	mg/L
Distribuição dos tamanhos dos sólidos suspensos	-
Teor de oxigênio	mg/L
Teor de gás sulfídrico	mg/L
TOC (carbono orgânico total)	mg/L
Nitrogênio, Fósforo	mg/L
Bactérias redutoras de sulfato	NMP/ml
Bactérias anaeróbicas totais	NMP/ml

Fonte: Curbelo (2002)

3.4.4. Processos de Tratamento da água produzida

O sistema mais utilizado na indústria do petróleo para o tratamento da água produzida é realizado a partir de hidrociclones e consiste basicamente na separação gravitacional, sendo posteriormente a água descartada no meio ambiente ou reinjetada nos poços. Processos físicos e químicos de tratamento da Água Produzida (AP) são utilizados para reduzir a concentração de óleo na emulsão e os sólidos em suspensão que podem tamponar os reservatórios (THOMAS, 2004). Apenas 30% do óleo emulsionado consegue ser recuperado pelos métodos convencionais devido à sua alta viscosidade, geologia da formação e alta tensão interfacial entre os fluidos do reservatório. Devido a este fato, é fundamental desenvolver métodos de recuperação mais avançados para atuar nos pontos onde o primeiro processo não atingiu as taxas de extração desejadas (PAULINO et al., 2007). Alguns métodos avançados de recuperação estão demonstrados na Tabela 3.2 abaixo:

Tabela 3.2: Métodos avançados de recuperação de água produzida

Método de Análise	Eficiência de Remoção do óleo	Autores
Eletroflotação	>90%	Santos et al. (2007)
Reator “airlift” modificado, no pós-tratamento por eletroflotação.	83.07%	Leite et al. (2007)
Tensoativos em sistemas microemulsionados	90.89%	Paulino et al. (2007)
Reator biológico do tipo “air lift”	85%	Campos, Nóbrega e Sant'Anna Jr. (2001)
Separação, borbulhamento e coalescência –separação primária	TOG de 40mg/L	OGP (2002)
Separação primária+hidrociclones ou centrífugas	TOG entre 15 e 30mg/L	OGP (2002)
Técnicas Biológicas (Aeróbica, Bioreator anaeróbico, Reator enzimático, Bioreator de Membrana (MBR))	-	Costa, Amorim, Machado (2006)
Técnicas de Oxidação (Ozônio, Peróxido de hidrogênio, Electron beam, Plasma)	-	Costa, Amorim, Machado (2006)

A principal importância do tratamento da água produzida está na redução da concentração de óleo presente na emulsão para adequá-la ao descarte, no controle dos microrganismos promotores da biocorrosão e na retirada de sólidos em suspensão para evitar o tamponamento dos reservatórios e o ataque corrosivo aos equipamentos (SEGUI, 2009).

3.4.5. Destino da Água Produzida

Os contaminantes presentes na água produzida podem ocasionar diversos efeitos sobre os sistemas aquáticos, por isso, o impacto ambiental da mesma pode ser avaliado pela toxicidade e quantidade dos compostos orgânicos e inorgânicos presentes. Portanto, após o descarte da água produzida, alguns contaminantes irão se dissolver e outros permanecerão em solução, ocasionando um impacto nocivo ao meio ambiente. Vale ressaltar que a salinidade e o teor de óleo são fatores determinantes na escolha do tratamento e do local de descarte da água produzida (OLIVEIRA; OLIVEIRA, 2000).

Os volumes de água produzida que são co-processados durante os processos de produção de petróleo reduzem ao longo do término da vida útil dos poços. Esse volume pode exceder até dez vezes o volume de óleo produzido. Esse efluente contém uma mistura complexa de materiais orgânicos e inorgânicos, por isso precisa ter um descarte controlado para não causar impactos ambientais (VIEIRA, CAMMAROTA, CAMPORESE, 2003).

Em campos terrestres, a solução mais viável para a disposição da AP foi a reinjeção em poços, tanto para a recuperação secundária ou descarte após tratamento, desde que não provoque danos ambientais e ao reservatório. Em campos marítimos, a solução adotada foi lançar a água produzida após redução do TOG e atendimento à legislação no mar (THOMAS, 2004).

A produção *onshore* não apresenta restrições de espaço, portanto, torna-se mais viável a implantação de mais estágios nas estações de tratamento da AP, conseqüentemente, há maior eficiência no tratamento do efluente. Por outro lado, nas plataformas petrolíferas, a complexidade logística, a disponibilidade restrita de espaço e o alto custo operacional, dificultam o gerenciamento da AP, por isso o descarte no mar é freqüentemente utilizado como método de disposição (COSTA; AMORIM; MACHADO, 2006). O descarte da água produzida é preconizado pela Resolução do CONAMA nº 393, de 08/08/2007, que define parâmetros de monitoramento para diversos compostos e uma concentração média mensal de óleos e graxas de até 29mg/L, com valor máximo diário de 42mg/L. Segundo Santos

et al. (2007) para a reinjeção em poços de petróleo, a água deverá ter no máximo 5mg/L de óleos e graxas para evitar problemas ambientais.

3.5 Biocorrosão em Dutos e Tanques de Petróleo

A biocorrosão dos tanques de armazenamento de óleo industriais geralmente ocorre no fundo, com a população microbiana associada à água de sedimentação, ocasionando perdas de produção e sérios impactos ambientais no solo e na água subterrânea. O carbono e o hidrogênio para o crescimento dos microrganismos são fornecidos pela abundância do combustível e o oxigênio pelas operações de reabastecimento (VIDELA, 2003).

Os microrganismos podem causar a biocorrosão nos sistemas de armazenamento de combustível pela sua entrada via ar, água, ou biofilme que é formado nas paredes dos tanques se estes não forem limpos adequadamente. Diversos fatores possibilitam o desenvolvimento da corrosão microbiológica em tanques de armazenamento de combustíveis porque propiciam a formação de lodos biológicos. Dentre eles, destacam-se as condições adequadas de nutrientes e umidade, o pH, a temperatura e o oxigênio dissolvido. Se forem estabelecidas essas condições ideais, o crescimento microbiano ocorrerá em função da capacidade de alguns microrganismos utilizarem o carbono presente nos combustíveis para o seu crescimento (BUCHER, 2009).

Um importante fator que contribui para o desenvolvimento de microrganismos associados a biocorrosão em dutos oleosos é a produção de biosurfactantes, pois contribuem para a formação de biofilmes na interface óleo/água dos tanques, em função da aderência dos microrganismos à superfície das grandes gotas de óleo. Dessa forma, a produção dos biosurfactantes na camada que reveste a gota, promove a redução da tensão interfacial a fim de propiciar o crescimento dos microrganismos e aumento da biodisponibilidade a substratos pouco solúveis pelo transporte passivo ou ativo do composto apolar para o interior da célula (BUCHER, 2009).

A água é importante para o início do desenvolvimento microbiano, pois na concentração de apenas 1% em um sistema de armazenamento é suficiente para estimular o crescimento (GAYLARDE; BENTO; KELLEY, 1999). A presença de contaminantes dissolvidos em água condensada em dutos pode resultar em taxas de corrosão maiores nas partes mais baixas das tubulações onde a água condensada flui por gravidade (CAVALCANTI et al., 2002). Segundo Videla (2003), mesmo que parte da água seja purgada periodicamente no fundo dos sistemas de armazenagem, uma parte fica aderida na forma de gotículas ou microdepósitos de umidade, nos sulcos e irregularidades das paredes metálicas.

A presença dos microrganismos redutores de sulfato em dutos requer um processo de limpeza eficiente para reduzir a corrosão ao longo de toda a sua extensão. Torres e França (2002) afirmam que a utilização de processos de passagem de pig para a remoção de biofilmes mostrou-se parcialmente eficiente, pois é imprescindível a determinação de condições de aplicação deste processo para reduzir a população microbiana, a fim de inviabilizar o desenvolvimento de espécies anaeróbias estritas, como as bactérias redutoras de sulfato que constituem o principal grupo microbiano envolvido no processo de CIM e manter a existência de um filme capaz de proteger a superfície metálica da ação corrosiva do meio.

Amostragens de fluidos produzidos na indústria do petróleo foram realizadas por pesquisadores (Tabela 3.4) que obtiveram contagens de MRS via método de NMP pela técnica tradicional de tubos múltiplos (ALMEIDA; SÉRVULO; FRANÇA, 2002; BENKA-COKER et al., 1995; VIEIRA; CAMMAROTA; CAMPORESE, 2003; PENNA, 2003; SOUZA, 2009). Vale ressaltar os estudos de Benka-Coker et al. (1995) que demonstraram existir abundância desses microrganismos em todas as amostras coletadas em campos de petróleo em um período de seis meses.

Tabela 3.3: Quantitativo de MRS em diferentes ambientes analisados pela técnica de Número Mais Provável (NMP)

Ambiente (Local)	Valores (MRS/mL)	Autores
Torres de Resfriamento	10 a 10 ⁴	Sungur e Cotuk (2004)
Campos de petróleo <i>offshore</i>	10 ¹ , 10 ⁴ e 10 ⁷	Souza, Cammarota, Sérvulo (2010)
Campos petrolíferos na Nigéria	10 a 10 ³	Benka-Coker et al. (1995)
Campos Petrolíferos no Canadá	10 ² a 10 ³	Davidova et al. (2001)
Óleo cru do Terminal Barra do Furado	10 ³	Mota (2009)
Tanques de armazenamento de água/óleo	10 ⁴ e 10 ⁵	Sant'anna (2009)
Tanques de Óleo (Canadá)	10 ¹ a 10 ³	Eckford e Fedorak (2002)
Água produzida de Carmópolis/SE.	10 ⁶	Gonçalves, Rocha, Cardoso (2009).

3.6 Detecção e Monitoramento da Biocorrosão

As principais metodologias de detecção e quantificação de microrganismos causadores da CIM incluem métodos de cultura. Atualmente, os métodos moleculares têm sido bastante difundidos para a identificação destes microrganismos, contudo, são mais onerosos e requer maior especialização dos executantes das análises. A escolha do método analítico é essencial para o sucesso de um programa de monitoramento da biocorrosão porque interfere diretamente no custo e tempo de processamento da análise, conseqüentemente, influenciará na aplicação mais rápida das formas de controle da CIM.

O conceito de Número Mais Provável (NMP) é bastante antigo, foi adotado a partir dos estudos de MacCrady em 1915, por isso vem sendo discutida por vários pesquisadores, que visam melhorar o método de diluição. Este método estima a

densidade de organismos em meio líquido, sem contagem direta, pois a amostra líquida é incubada em meio de cultura para verificar o crescimento dos microorganismos de forma visual por meio da mudança na coloração do meio (COCHRAN, 1950). No método de cultura, a formação do precipitado escuro de sulfeto de ferro é usada na detecção da presença de MRS (JAIN, 1995).

A estimativa da densidade microbiana é feita pela aplicação da teoria da probabilidade, utilizando certos pressupostos. Há duas suposições principais na teoria do NMP propostas por Cochran (1950): a primeira é que os organismos são distribuídos randomicamente em todo o líquido. Isto significa que um organismo possui a mesma probabilidade de ser encontrado em qualquer parte do líquido, e que não há tendência de agrupamento ou repulsão entre os organismos. A segunda suposição é que cada amostra do líquido, quando incubada no meio de cultura, exibirá qualquer indício de crescimento sempre que a amostra contiver um ou mais organismos. Se o meio de cultura é pobre nutricionalmente e existem fatores que inibem o crescimento ou se a presença de mais de um organismo é necessária para iniciar o crescimento, o número mais provável encontrado terá subestimado a densidade real de organismos presentes na amostra.

A aplicação prática das técnicas de cultura para enumerar os MRS na indústria do petróleo é constituída pela diluição em série a partir do Número Mais Provável (NMP), que requer dispêndio de tempo considerável em função do meio anaeróbio utilizado principalmente no que concerne à incubação dos meios (LIMA, 2006). Neste enfoque, o desenvolvimento de novos métodos simplificados que sejam menos onerosos e ofereçam eficiência e segurança na distinção de microorganismos constitui importante ferramenta na detecção dos microorganismos (YAMAOKA-YANO; VALARINI, 1998). Por isso, atualmente os métodos de cultura utilizando microplacas de 96 poços têm sido pesquisados a fim de quantificar os microorganismos de forma mais rápida que os métodos tradicionais e reduzir o espaço físico requerido para as análises (LIMA, 2006).

Vester e Ingvorsen (1998) realizaram um aperfeiçoamento do método do NMP para a enumeração seletiva de MRS pelo uso do meio natural e sulfato radiomarcado

($^{35}\text{SO}_4^{2-}$), onde o meio de cultivo natural consiste de lodo ou lama de sedimento anaeróbio esterilizados, obtidos dos locais de amostragem. As densidades de MRS em amostras de sedimento do Fjord Kysing na Dinamarca e de lodo ativado foram determinadas através do método de NMP tradicional, com meio de cultivo sintético, e método de NMP com sulfato radiomarcado e meio natural. O procedimento resultou no melhoramento significativo da estimativa do número de MRS nas amostras analisadas.

O método de microdiluição foi primeiramente desenvolvido por Fung e Kraft (1968) para miniaturizar o processo de contagem de células viáveis. O método de placa de ágar convencional tem sido usado por pesquisadores em muitas áreas da microbiologia para avaliar densidades de bactérias viáveis. A comparação dos resultados de dois métodos para enumeração bacteriana demonstrou que o método de microplaca foi comparável estatisticamente em exatidão e precisão ao método de placa ágar convencional. No método de microplaca, várias amostras foram analisadas simultaneamente, obtendo-se os resultados em menor tempo (leitura de 12h às 15h), sendo um método eficiente também na economia de espaço e materiais. Além disso, este método foi desenvolvido para analisar um grande número de amostras.

Townsend e Naqui (1998), afirmam que as microplacas podem quantificar concentrações bacterianas totais em alimentos com resultados mais precisos que a técnica convencional da metodologia de NMP com tubos múltiplos, em função do grande número de cavidades disponíveis nas microplacas. Portanto, pode gerar valores superiores à metodologia tradicional que refletem com mais acurácia a quantidade de NMP de MRS nas amostras analisadas.

É fundamental conhecer a composição química da água produzida e a coleta das amostras precisa ser realizada previamente a qualquer tratamento de limpeza para que não sejam removidos os produtos de corrosão (VIDELA, 2003). O foco do monitoramento de MRS está na população sésil, utilizado na identificação da CIM como um fator de análise de deficiência ou instituído como um processo rotineiro em sistemas susceptíveis à biocorrosão, assim como para a avaliação do custo efetivo de várias estratégias de controle e gerenciamento (JACK, 2002).

Um sistema de monitoramento deve possuir condições ideais para a confiabilidade dos métodos aplicados, portanto, requer simplicidade, facilidade na interpretação dos dados, compatibilidade com a estrutura onde será instalado, precisão, sensibilidade e deve ser economicamente viável e de baixo custo de instalação, manutenção e reparo (VIDELA, 2003). Dessa forma, podem ser realizadas análises físico-químicas de vários parâmetros que influenciam diretamente o processo corrosivo e o metabolismo dos microrganismos (GALVÃO, 2008) e análises microbiológicas para avaliar a população microbiana planctônica e séssil, pois indicam os níveis de agressão ao metal a partir de amostragens dos depósitos ou da fase aquosa (VIDELA, 2003).

3.7 Métodos de Prevenção e Controle da CIM

A prevenção e o tratamento proveniente da geração de H_2S pelo metabolismo dos MRS requerem bons métodos de identificação com o intuito de assegurar a detecção e aumentar o conhecimento sobre a compreensão da atividade dessas bactérias (GAYLARDE; COOK, 1990).

O tratamento da água produzida com biocidas é amplamente utilizado para combater os efeitos dos MRS nos sistemas industriais. Segundo Hamilton (1985), a maior eficiência dos biocidas está no combate das populações microbianas planctônicas, porque o biofilme fornece uma proteção às espécies sésseis, dificultando a ação dos biocidas. Para Sousa (2009) o emprego de nitrato tem sido utilizado para estimular o desenvolvimento de bactérias redutoras de nitrato e inibir a ação dos MRS, porém esta tecnologia ainda é incipiente e o processo de aplicação do nitrato pode gerar subprodutos ou metabólitos produzidos pelos microrganismos atuantes, assim como seus efeitos a longo prazo. Portanto, se houver um consórcio microbiano no reservatório com os MRS que são capazes de utilizar nitrato como acceptor final de elétrons, esta população continuará crescendo. Caso haja supressão da injeção de nitrato no reservatório, haverá um aumento considerável da produção de gás sulfídrico.

Adicionalmente, em função dos problemas de acidificação dos reservatórios é necessário desenvolver alguns mecanismos de controle e prevenção do *souring* (Tabela 3.3), dentre os quais podemos destacar:

Tabela 3.4: Mecanismos de Controle e Prevenção do *Souring*

Mecanismo de Controle	Autor	Viabilidade
Limpeza química (biocidas)	Larsen, Sanders e Talbot (2004) Gardner, Stewart (2002)	Baixo custo
Controle dos níveis de oxigênio no fluido injetor	Jordan e Walsh (2004)	Baixo custo
Exclusão Biocompetitiva (uso do nitrato)	Sousa (2009) Segui (2009)	Baixo custo
Limpeza mecânica (pigging, escovação)	Galvão (2008)	Alto custo operacional
Remoção de sulfato da água do mar	Jordan e Walsh (2004)	Alto custo
Inibidores de corrosão	Gentil (2003)	Caráter tóxico
Esterilização da água do mar com radiação ultravioleta (UV)	Labas, Martín, Cassano (2005)	Alto custo
Emprego de agentes bioestáticos	Larsen, Sanders e Talbot (2004)	Alto custo
Floculantes e coagulantes para tratamento da água	Braga (2008)	-

Cabe ressaltar que o tratamento ou a prevenção dos danos causados pelo *souring* biogênico requer um trabalho de detecção eficiente a fim de aperfeiçoar o conhecimento básico e a compreensão do metabolismo dos MRS nos ambientes diversificados em que as mesmas são encontradas (GAYLARDE; COOK, 1990).

4. METODOLOGIA

Esta pesquisa foi desenvolvida em três etapas metodológicas: Etapa 1 – Escolha dos locais com potencial ou não de biocorrosão; Etapa 2 – Caracterização Microbiológica; Etapa 3 – Verificação da influência das variáveis físico-químicas no crescimento microbiano.

4.1 Escolha dos locais com Potencial de Biocorrosão

Inicialmente foi realizada análise microbiológica e físico-química de doze pontos de amostragem em diferentes dutos e tanques, no período de dezembro de 2010 a março de 2011. A partir destes resultados preliminares, foram escolhidos oito locais derivados dos ambientes pré-selecionados com e sem potencial para o desenvolvimento da biocorrosão a fim de verificar a possibilidade de substituição do método tradicional pelo método de microplacas para resultados negativos e positivos de quantificação dos microrganismos. As coletas das amostras para a caracterização microbiológica foram realizadas com a periodicidade mensal entre maio e outubro de 2011.

4.1.1. Área de Estudo

As análises experimentais foram desenvolvidas no LABSAN - Laboratório de Saneamento, localizado no Centro Tecnológico da Universidade Federal do Espírito Santo, no período de dezembro de 2010 a dezembro de 2011. A área de estudo localiza-se em Linhares no ES (Espírito Santo) numa unidade de tratamento de gás natural (T1), com avaliação do duto “A” (aqueduto) conforme Figura 4.1 e duto “B” (gasoduto) (Figura 4.2) e nas unidades de tratamento de óleo (T2 e T3) que são interligadas pelo duto “C” (oleoduto) (Figura 4.3), sendo que em T3 está o processo de tratamento de água produzida (T4). A unidade de tratamento de óleo (T5) recebe o duto A e contém o sistema de tratamento de água produzida (T6).

O duto “B” refere-se a um gasoduto que transporta gás natural não-tratado proveniente de uma plataforma constituída de 9 poços de gás em campos do Norte do Espírito Santo. O gasoduto possui extensão de 56,20 km, diâmetro de 18”, opera

com pressão de aproximadamente 70 kgf/cm². O duto “A” transporta água oleosa proveniente do LGN (Líquido de Gás Natural) da plataforma marítima e da drenagem de toda unidade de tratamento, com extensão de 19,52 km, diâmetro de 6” e operando com pressão de aproximadamente 10 kgf/cm² (PETROBRAS, 2008). O duto “C” (oleoduto) escoo óleo tratado da unidade de tratamento de óleo T2 para a unidade de tratamento de óleo T3, onde se junta à produção deste campo em outro duto que segue para armazenamento. O duto C tem 6,49 Km de extensão, diâmetro de 4” e opera com pressão de aproximadamente 10 kgf/cm² (PETROBRAS, 2011).



Figura 4.1 - Duto “A”



Figura 4.2 - Duto “B”



Figura 4.3 - Duto “C”

Nas unidades de óleo o sistema de tratamento de água produzida é constituído por um flotador que separa a emulsão água-óleo gravitacionalmente, tanque pulmão que armazena temporariamente a água e bombas de sucção da água para reinjeção em poços de descarte. Na sucção das bombas da unidade de tratamento T6 tem um pequeno filtro cartucho para separar material grosseiro antes da reinjeção em poços de descarte. Esse filtro é a principal diferença entre essa unidade e a unidade de tratamento T4, que é dotada de filtros de leito misto após o tanque pulmão com a finalidade de retirar os sólidos suspensos antes da injeção nos poços de produção e de descarte. As unidades de tratamento de óleo e gás com a localização física dos pontos de amostra no processo de produção encontram-se nas Figuras 4.4 e 4.5.

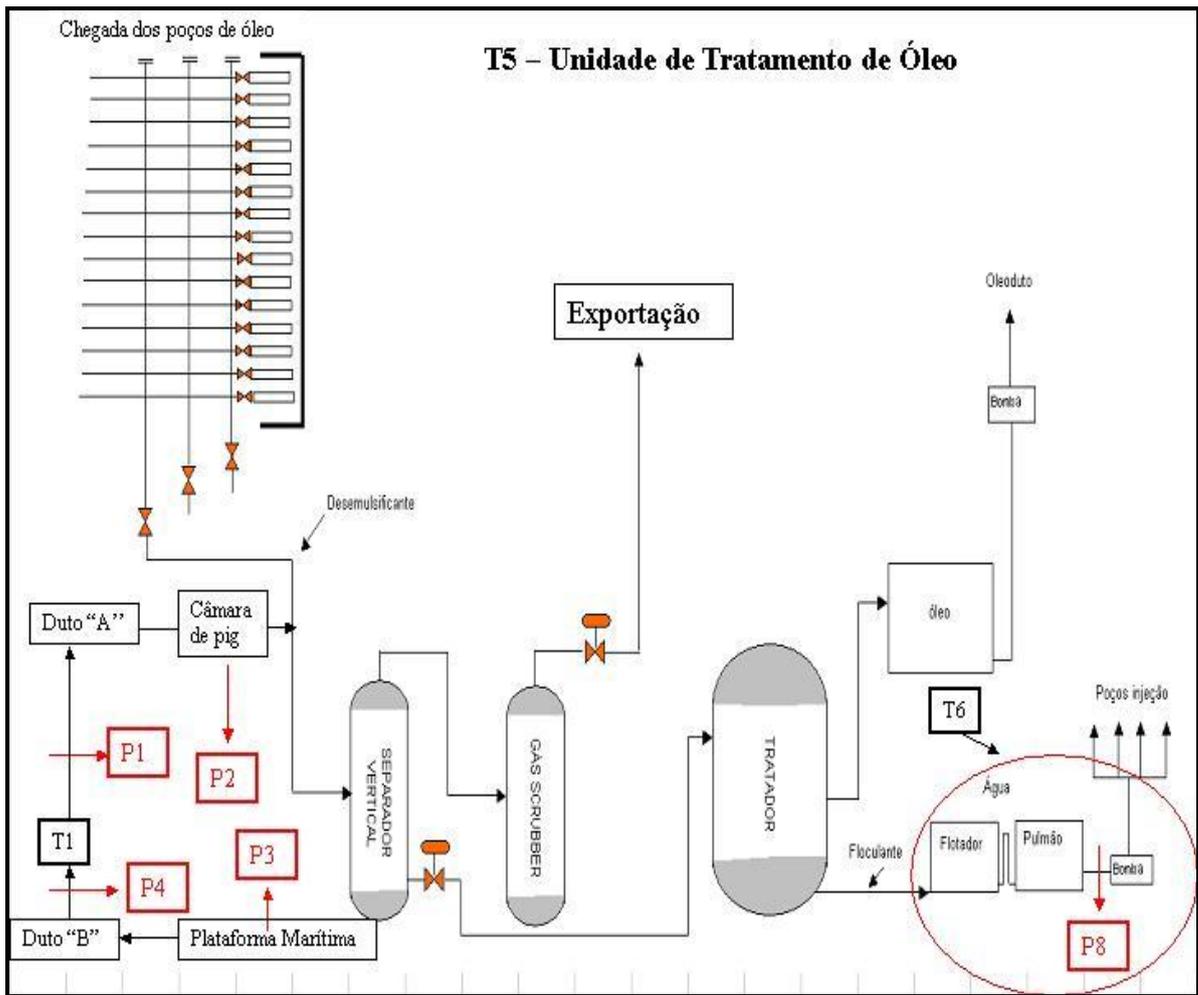


Figura 4.4: Esquema Simplificado da unidade de óleo T5 com os respectivos pontos de amostragem

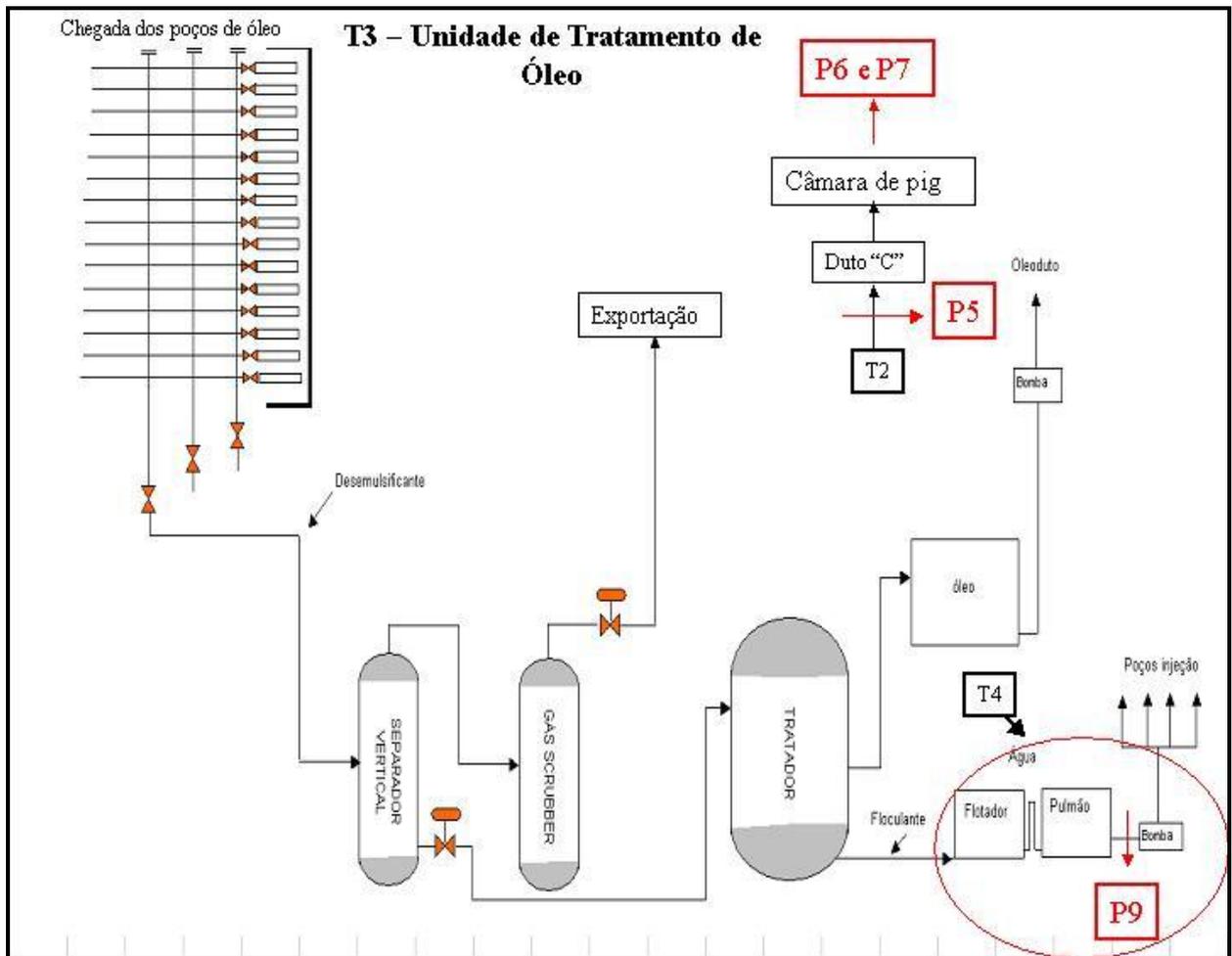


Figura 4.5: Esquema Simplificado da unidade de gás e unidade de óleo T3 com os respectivos pontos de amostragem

A localização dos pontos de amostragem nas unidades de tratamento de petróleo e gás com seus fluidos correspondentes podem ser observados no Quadro 4.1.

Quadro 4.1: Localização dos pontos de amostragem em suas unidades de produção de petróleo e gás

Localização Física das Unidades	Equipamentos	Pontos de Amostragem				Fluidos e Resíduos
		M	Localização	J	Localização	
Unidade de tratamento de gás (T1) até Unidade de óleo (T5)	Duto A - Aqueduto	P1 (Figura 4.8)	Sucção da bomba de água em T1	P2 (Figura 4.9)	Dreno da Câmara de pig em T5	Água Oleosa bruta
Plataforma até Unidade de tratamento de gás (T1)	Duto B - Gasoduto	P3 (Figura 4.6)	Separador de produção da Plataforma	P4 (Figura 4.7)	Drenagem de água do separador trifásico em T1	Água Oleosa bruta
Unidade de óleo (T2) até unidade de óleo (T3)	Duto C - Oleoduto	P5 (Figura 4.10)	Tanque de Óleo em T2	P6 e P7 (Figura 4.11)	Câmara de pig em T3	P5-Água Produzida P6 – Resíduo sólido preto P7-Óleo tratado
Unidade de óleo (T5)	Saída do Filtro em T6	P8 (Figura 4.13)				AP tratada
Unidade de óleo (T3)	Saída do Filtro misto em T4	P9 (Figura 4.12)				AP tratada

Legenda: AP – Água Produzida, M – Montante, J – Jusante

4.1.2. Amostragem e Condicionamento

No Quadro 4.2 visualiza-se a data de realização das coletas nos diferentes pontos de amostragem para a caracterização microbiológica conforme a localização física das unidades de tratamento, pois os pontos P1, P2, P4 e P8 encontram-se na unidade de tratamento de gás (T1) e unidade de tratamento de óleo (T6); o ponto P3 na plataforma marítima e os pontos P5, P6, P7 e P9 nas unidades de tratamento de

óleo T2 e T3. Nos pontos P2, P4, P8 e P9 também foi coletada água produzida para a caracterização físico-química.

Quadro 4.2: Datas das coletas

Pontos de Coleta	Datas	Ponto de Coleta	Datas	Pontos de Coleta	Datas
P1, P2, P4, P8	13/05/2011	P3	20/05/2011	P5, P6, P7, P9	26/05/2011
	25/06/2011		21/06/2011		18/06/2011
	20/07/2011		22/07/2011		05/07/2011
	25/08/2011		27/08/2011		15/08/2011
	16/09/2011		30/09/2011		20/09/2011
	18/10/2011		17/10/2011		20/10/2011

A localização física dos pontos de amostragem nas estações pode ser visualizada nas figuras 4.6 à 4.13.



Figura 4.6: Montante do Duto B



Figura 4.7: Jusante do Duto B



Figura 4.8: Montante do Duto A



Figura 4.9: Jusante do Duto A



Figura 4.10: Montante do Duto C



Figura 4.11: Jusante do Duto C (resíduo)



Figura 4.12: Saída de água em T4



Figura 4.13: Saída de água em T6

As coletas de água produzida para a caracterização físico-química foram realizadas em frascos de polietileno e frascos de vidro, conforme a necessidade para cada tipo de análise e armazenadas em caixas de isopor contendo gelo para preservação das mesmas no deslocamento até o laboratório de análises. As Figuras 4.14 à 4.19 ilustram todo o procedimento de coleta e análise para os parâmetros Oxigênio Dissolvido (OD) e ferro solúvel realizadas em campo, assim como a coleta e preservação para análise do sulfeto posteriormente no laboratório. Não foi possível realizar a análise de OD e DBO (Demanda Bioquímica de Oxigênio) no ponto P4 devido à alta toxicidade da amostra que interferiu na verificação da cor para OD e na leitura da DBO, pois mesmo com altas diluições da amostra (1:1000) não foi possível detectar a leitura pelos métodos tradicionais.



Figura 4.14: Coleta para análise de OD



Figura 4.15: Análise de OD



Figura 4.16: Coleta para análise de sulfeto



Figura 4.17: Preservação da amostra de sulfeto



Figura 4.18: Coleta para análise de ferro



Figura 4.19: Análise de ferro

As coletas de amostras de óleo (Figura 4.20) e água (Figura 4.21) em dutos e tanques para análise microbiológica foram realizadas com auxílio de uma seringa estéril, inoculando-se quantidades de 5 mL das amostras líquidas (água produzida e óleo) em frascos do tipo penicilina de 50mL, contendo 45 mL de solução redutora para preservação (Lima, 2006; Segui, 2009) em função do tempo requerido entre a amostragem (região de Linhares) e a realização da análise no laboratório da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES) em Vitória. Todas as amostras foram inoculadas no prazo máximo de 24 horas. A coleta da amostra sólida (resíduo) foi realizada após a passagem de pig no oleoduto com uma espátula estéril (Figura 4.22), abrindo-se os frascos contendo a solução redutora para inserir o resíduo, selando-os em seguida com tampas de borracha e lacre, para manter o ambiente redutor até a realização do procedimento de diluição no laboratório.



Figura 4.20: Coleta de óleo



Figura 4.21: Inoculação de amostra líquida



Figura 4.22: Inoculação de resíduos

4.2. Caracterização Microbiológica

4.2.1 Meios de Cultivo e Solução de Diluição para MRS e BANHT

O crescimento e a quantificação dos MRS foram realizados em meio Postgate B modificado (MCKENZIE; HAMILTON, 1992), cuja composição é apresentada na

Tabela 4.1. A outra modificação do meio se deu pela substituição do ácido tioglicólico da composição original pela adição de 0,1 mL de uma solução 12,4 g/L de tioglicolato de sódio (agente redutor), em cada frasco da série de diluição. Este agente redutor juntamente com a presença do ácido ascórbico permite alcançar o potencial redox abaixo de -100 mV, condição necessária para o crescimento dos Microrganismos Redutores de Sulfato (MRS) (NEVIUS et al., 2004). Segundo Postgate (1979), este meio é empregado para fins de diagnóstico e manutenção de culturas e o crescimento é indicado pela alteração da cor de róseo para o enegrecimento com o sulfeto de ferro (FeS) decorrente da redução do sulfato a sulfeto.

Tabela 4.1: Composição do Meio Postgate B Modificado para MRS

Componentes	Concentração (g/L; mL/L)
NH ₄ Cl	1,0 g
KH ₂ PO ₄	0,5 g
MgSO ₄ .7H ₂ O	2,0 g
NaSO ₄	1,0 g
FeSO ₄ .7H ₂ O	0,5 g
CaCl ₂ .6H ₂ O	0,1 g
Ácido Ascórbico	0,1 g
Extrato de levedura	1,0 g
Resazurina (0,025%, m/v)	4,0 mL
Lactato de sódio (50%, p/v)	7,0 mL
NaCl	variável
pH final	7,6 +/- 0.2

Fonte: Mckenzie e Hamilton (1992)

A composição do meio para detecção e quantificação de Bactérias Anaeróbias Heterotróficas Totais (BANHT) pode ser verificada na Tabela 4.2, conforme definido por Sant'anna (2009), em que a verificação do crescimento das bactérias é dada pela mudança de cor (rosa para incolor) com a turvação do meio de cultura. Além desses componentes, acrescentou-se 0,1 mL de uma solução 12,4 g/L de tioglicolato de sódio (agente redutor), em cada frasco da série de diluição.

Tabela 4.2: Composição do Meio para BANHT

Componentes	Concentração (g/L; mL/L)
Glicose	5,0 g
Peptona universal	4,0 g
Extrato de levedura	1,0 g
Resazurina (0,025%, m/v)	4,0 mL
NaCl	variável
pH final	7,6 +/- 0.2

Fonte: Sant'anna (2009)

A composição da solução redutora utilizada nas diluições dos meios para MRS e BANHT pode ser visualizada na Tabela 4.3. A Solução Redutora possui a função de diluir a amostra e preservá-la por certo período de tempo, normalmente 24 horas, até que se realize a análise.

Tabela 4.3: Composição da solução redutora

Componentes	Concentração (g/L; mL/L)
Tioglicolato de sódio	0,124 g
Ácido Ascórbico	0,1 g
Resazurina (0,025%, m/v)	4,0 mL
NaCl	variável
pH final	7,6 +/- 0.2

Fonte: Sant'anna (2009)

Realizou-se todo o preparo dos meios de cultivo para MRS e BANHT e da solução redutora sob condições de anaerobiose com purga constante do meio. Após 15 min. de purga, o pH do meio foi ajustado a $7,6 \pm 0,2$ com a adição de NaOH e distribuído em frascos do tipo penicilina. A distribuição do meio nos frascos de penicilina foi realizada sob purga de nitrogênio utilizando uma agulha de metal para purgar o ar com oxigênio localizado no *headspace* do frasco de penicilina (MILLER; WOLIN, 1974), inserindo também gás de nitrogênio no meio de cultivo (FEIO et al., 1998). Em seguida, os frascos foram vedados com tampas de borracha e lacrados com selos de alumínio. Em seguida, os meios foram esterilizados a 121°C (1,1 atm) por

15 minutos. Após esterilização, os frascos foram acondicionados em local escuro e temperatura ambiente.

Foi necessário acrescentar 87 g/L de NaCl na água do mar sintética (água do mar produzida em laboratório) que continha 35 g/L de NaCl para que fosse possível obter uma média de 120 g/L de NaCl, referente à salinidade encontrada nos pontos de amostragem dos tanques de água produzida, visto que se tratava possivelmente de um consórcio halofílico. Não foi preciso realizar o ajuste de salinidade para os outros pontos de amostragem que apresentaram salinidade baixa (<8 g/L de NaCl).

Previamente à realização das análises microbiológicas e após o resfriamento do meio de cultura foi adicionado 0,1mL de tioglicolato de sódio (12,4 g/L) em todos os frascos de 10mL que continham meio de cultura para MRS e BANHT. Além disso, os frascos de solução redutora para as amostras de óleo e resíduo receberam a injeção de 0,1mL de Tween, com o intuito de reduzir a tensão superficial entre o óleo e a água constituinte da amostra. Ainda, foi acrescentado 0,1mL de cicloheximida nos 6 frascos de diluição de 10mL contendo meio de cultura para BANHT para realizar a análise com microplacas a fim de evitar o crescimento de fungos nas mesmas. Devido ao meio de cultura de BANHT não ser seletivo, tal como o meio para MRS, realizou-se um controle negativo para a análise com o método de microplacas de 96 poços a fim de evitar erros na leitura do resultado.

4.2.2 Enumeração do NMP de MRS/mL e NMP de BANHT/mL pelo Método tradicional (COCHRAN, 1950) e Método de microplacas de 96 poços

Para a quantificação dos MRS pelo método tradicional foram realizadas diluições seriadas (10^{-1} a 10^{-6}) a partir de 5 mL de amostra de água ou óleo em frascos contendo 45 mL de solução salina redutora. Alíquotas de 1 mL do frasco de 45mL foram inoculadas com auxílio de seringa estéril em frascos de 10 mL de capacidade, contendo 9 mL do meio Postgate B modificado através da técnica do número mais provável (NMP) triplicata para cada diluição (COCHRAN, 1950). O NMP/ 100mL de MRS foi determinado a partir da inoculação em 3 tubos com 10, 1, 0,1 mL de amostra (FDA, 2010) (Anexo I). Condições assépticas foram mantidas ao longo do experimento, tendo em vista a realização da análise em câmara de fluxo laminar. A

determinação do crescimento celular foi feita após o período de incubação relativo ao 28º dia e à temperatura de $32 \pm 2^\circ\text{C}$. O crescimento de MRS pode ser visualizado pelo enegrecimento do meio de cultura (Figura 4.23) e o de BANHT pela turvação do meio (Figura 4.24).



Figura 4.23: Crescimento de MRS pelo método tradicional



Figura 4.24: Crescimento de BANHT pelo método tradicional

A quantificação dos microrganismos por meio do método de microplacas proposto por Lima (2006) iniciou-se com a inserção de 5 mL de amostra no frasco tipo penicilina (capacidade de 50mL), contendo 45mL de solução redutora, realizada em campo. Esse procedimento refere-se à primeira diluição, pois em seguida foram realizadas diluições sucessivas nas microplacas até atingir a 6ª diluição, realizado na câmara de fluxo laminar. Após a inoculação, as microplacas foram incubadas em jarras de anaerobiose mantendo-se o ambiente anaeróbio a partir da reação de Becher, conforme orientação do fabricante, sendo finalmente levadas à estufa a $32 \pm 2^\circ\text{C}$. A determinação do crescimento celular foi feita no período de incubação referente ao 7º, 14º, 21º e 28º dia. Assim, os poços contendo precipitação de sulfeto de ferro com desenvolvimento de cor escura são considerados positivos para a contagem de MRS (Figura 4.25) e os poços com a coloração turva do meio de cultura foram considerados positivos para BANHT (Figura 4.26). As análises em microplacas foram realizadas em duplicatas, sendo o valor para comparação dos métodos a média geométrica dos mesmos (von SPERLING, 2001).

A contagem de BANHT utilizando o método de microplacas possui caráter inovador, pois não há dados na literatura científica sobre o crescimento desses microrganismos em microplacas.



Figura 4.25: Crescimento de MRS pelo método de microplacas de 96 poços



Figura 4.26: Crescimento de BANHT pelo método de microplacas de 96 poços

Foi gerada uma tabela de NMP por mL (Tabela 4.4) a partir da utilização das microplacas, baseado na equação 4.1 (COCHRAN, 1950):

$$\text{NMP} = (-2,305/v) * \log(s/n), \quad (\text{Equação 4.1})$$

onde:

n = Número total de poços; v = volume de cada amostra; s = número de amostras sem organismos (total de poços – poços positivos); \log = logaritmo na base 10.

Tabela 4.4: Tabela de NMP/mL usando 16 poços por diluição

s (poços)	Poços Positivos	NMP
16	0	0,00
15	1	21,52
14	2	44,52
13	3	69,23
12	4	95,91
11	5	124,92
10	6	156,70
9	7	191,82
8	8	231,09
7	9	275,61
6	10	327,00
5	11	387,79
4	12	462,18
3	13	558,09
2	14	693,27
1	15	924,36
0	16	>924,36

O método de contagem dos MRS e das BANHT em microplacas de 96 poços após o período de incubação considera a última diluição que possui todos os poços positivos ou que possuem um número superior a oito poços com resultados positivo.

O resultado final será a multiplicação do valor correspondente aos poços positivos na Tabela 4.5 pelo fator de diluição correspondente.

4.2.3 Comparação do Método tradicional (COCHRAN, 1950) e Método de microplacas de 96 poços para MRS e BANHT

A comparação entre ambos os métodos foi realizada a partir de gráficos Box-Plot gerados no programa Microsoft Excel Versão 7.

4.2.4 Análises Estatísticas

Para as análises microbiológicas foram realizadas amostragens com seis repetições em cada ponto para avaliar o crescimento microbiológico de MRS e BANHT pelo método tradicional e método de microplacas de 96 poços, tendo em vista ser um número considerável estatisticamente (ZAR, 1996) além da redução de custos com as análises. Inicialmente, realizou-se a análise estatística descritiva com os dados brutos para todos os pontos de amostragem, considerando a análise pelo método tradicional e método de microplacas de 96 poços para MRS e BANHT.

O programa estatístico utilizado para a aplicação dos testes estatísticos foi o BioStat 4.0. Aplicou-se o Teste de Kolmogorov-Smirnov para verificar se os dados brutos obtidos por ambos os métodos seguiam a distribuição Gaussiana Normal. Contudo, foi verificado que os dados possuíam uma distribuição assimétrica, por isso os dados brutos foram transformados, em logaritmo de base 10 (\log de NMP de MRS/mL + 2) (OLIVEIRA, 2005), para a comparação dos resultados e avaliação das diferentes metodologias de quantificação de microrganismos.

Após nova aplicação do teste de Kolmogorov-Smirnov com os dados logaritmizados observou-se a distribuição normal ($p=ns$) em todos os pontos de amostragem, porém, optou-se pela aplicação de testes não paramétricos em função da falta de homogeneização dos resultados e pela amostra ser pequena ($n=6$ repetições) para cada método, que reduz o poder de teste dos testes de hipótese paramétricos, então, os testes não paramétricos irão garantir resultados mais fidedignos da realidade. Vale ressaltar que os testes estatísticos foram aplicados para todos os

pontos de amostragem, exceto para P3 e P4, porque não houve desvios e nem variação dos dados.

Foi utilizado o teste não paramétrico de Friedman para as comparações globais, ou seja, os resultados do método tradicional em 28 dias com os resultados do método de microplacas de 96 poços em 7, 14, 21 e 28 dias, porque as amostras estão relacionadas já que a primeira diluição é feita no mesmo frasco de amostragem para ambos os métodos. Além disso, o teste de Wilcoxon foi empregado para comparações duas a duas. Para verificar a semelhança entre os dois métodos (tradicional e microplacas de 96 poços) aplicou-se a correlação de Spearman e foram construídos gráficos Box-Plot com auxílio do programa Microsoft Excel Versão 7.

4.3 Verificação da Influência das Variáveis Físico-Químicas no Crescimento Microbiano dos MRS e BANHT

4.3.1 Caracterização Físico-Química

A caracterização físico-química da água produzida foi realizada apenas nos pontos P2 e P4 por estarem localizados à jusante dos dutos e representar toda a sua extensão, e nos pontos P8 e P9 que estão no final do processo de tratamento da água produzida e à montante do sistema de reinjeção da água produzida nos reservatórios. As amostras foram coletadas com a mesma periodicidade das análises microbiológicas, por isso, realizaram-se seis campanhas entre maio e dezembro de 2011 para cada ponto de amostragem de água produzida (P2, P4, P5 e P9) e cada parâmetro foi analisado em duplicata.

Os parâmetros físico-químicos analisados foram: pH, turbidez, condutividade, dureza, alcalinidade, salinidade, DBO (Demanda Bioquímica de Oxigênio), DQO (Demanda Química de Oxigênio), sulfatos e sulfetos, SST, SSV, ST e STV, óleos e graxas, nitrogênio amoniacal de acordo com as metodologias descritas no Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (APHA, 2005), exceto para o parâmetro temperatura (medição direta), oxigênio dissolvido utilizando o kit CHEMets (CHEMETRICS, 2011) e o ferro solúvel pelo kit Merck (MERCK, 2011). A

Tabela 4.5 exibe a forma de preservação e os métodos analíticos utilizados para cada parâmetro físico-químico.

Tabela 4.5: Parâmetros Físico-Químicos para análise da água produzida

Local	Parâmetros	Preservação	Método Analítico
Campo	Temperatura (°C)	A	Instrumento Transmissor de Temperatura (TIT) in loco
	Oxigênio dissolvido (ppb)	A	Rhodazine D - comparação visual (Kit Chemets K7599) (CHEMETRICS, 2011)
	Ferro solúvel (mg/L)	A	Colorimétrico - comparação visual (Kit Merck 114759) (MERCK, 2011)
Laboratório	pH	B	Potenciométrico (APHA, 2005)
	Condutividade (uS/cm)	B	Condutivimétrico (APHA, 2005)
	Turbidez (UNT)	B	Nefelométrico (Turbidímetro) (APHA, 2005)
	SST(mg/L)	B	Gravimétrico - filtração (0.45um poro) - secagem a 105°C (APHA, 2005)
	ST(mg/L)	B	Gravimétrico - secagem a 105°C (APHA, 2005)
	SSV(mg/L)	B	Gravimétrico - filtração (0.45um poro) - ignição 500-550°C (APHA, 2005)
	STV (mg/L)	B	Gravimétrico - ignição 500-550°C (APHA, 2005)
	DBO ₅ (mg/L)	B	Manométrico (Oxítóp) (APHA, 2005)
	DQO (mg/L)	C	Colorimétrico (5220-D) (APHA, 2005)
	Sulfato (mg/L)	B	Turbidimétrico (4500-E) (APHA, 2005)
	Sulfeto (mg/L)	E	Iodométrico (4500- F) (APHA, 2005)
	Óleos e Graxas (mg/L)	D	Gravimétrico (APHA, 2005)
	Nitrogênio Amoniacal (mg/L)	C	Titrimetria com H ₂ SO ₄ (Destilação primária) (APHA, 2005)
	Dureza (mg/L)	B	Titrimetria (APHA, 2005)
	Salinidade(mg/L)	Não requerido	Argentométrico (APHA, 2005)
Alcalinidade(mg CaCO ₃ /L)	B	Potenciométrico (APHA, 2005)	

Legenda: A= Análise Imediata; B= Refrigeração a 4°C; C=Refrigeração a 4°C e H₂SO₄ até pH<2; D=Refrigeração a 4°C e HCl até pH<2; E= Refrigeração a 4°C e 1mL de NaOH e 1mL de C₄H₆O₄Zn . 2 H₂O em frasco âmbar.

4.3.2. Análises Estatísticas

Realizou-se a estatística descritiva referente à média, a mediana, o desvio padrão e o coeficiente de variação das seis amostragens realizadas nos pontos P2, P4, P8 e P9 para cada variável físico-química da análise da água produzida. Com estes resultados, foram obtidos gráficos para cada parâmetro físico-químico e aplicou-se a análise de variância ANOVA (teste de tukey) para verificação das diferenças significativas. O cálculo de médias e desvios padrões para os parâmetros SSV (Sólidos Suspensos Voláteis), SST (Sólidos Suspensos Totais), turbidez e alcalinidade não apresentou variabilidade dos dados. Para a análise de SSV e SST foi necessário transformar os dados para log a fim de homogeneizar variâncias e poder representá-los nos gráficos devido aos dados brutos terem valores próximo a 0. Na construção dos gráficos para os parâmetros com distribuição assimétrica dos dados, foram utilizados valores medianos ao invés da média a fim de reduzir a discrepância dada pelos valores extremos e aplicou-se ANOVA (teste não paramétrico de Friedman) para análise da variância. Nos testes utilizaram-se como significativos valores de p menores ou iguais a 0,05.

A análise estatística realizada para verificar a influência das variáveis físico-químicas no crescimento microbiano foi feita a partir de gráficos BoxPlot, gerados no programa Microsoft Excel Versão 7 e pela matriz de correlação com o auxílio do programa SPSS Statistics 19, apenas para os resultados de MRS (foco da pesquisa). Os gráficos foram gerados utilizando o método tradicional e o método de microplacas de 96 poços (7dias) e as variáveis físico-químicas mais relevantes para o crescimento dos microrganismos, tais como o pH, condutividade, sulfato, sulfeto, DQO e DBO. A matriz de correlação foi aplicada para os pontos de amostragem das análises físico-químicas (P2, P4, P8 e P9) a fim de verificar a correlação entre as variáveis pesquisadas nesses pontos e os métodos microbiológicos analisados.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos estão apresentados em três seções: escolha dos locais com potencial de biocorrosão (Seção 5.1); caracterização microbiológica averiguando a significância estatística entre os métodos de contagem de microrganismos (Seção 5.2), e a correlação entre as variáveis físico-químicas e microbiológicas a fim de verificar a influência dos mesmos no crescimento microbiano (Seção 5.3).

5.1 Escolha dos locais com Potencial de Biocorrosão

Os resultados de contagem de NMP/mL de Microrganismos Redutores de Sulfato (MRS) e Bactérias Anaeróbias Heterotróficas Totais (BANHT) pelo método tradicional e método de microplacas nos 12 pontos de amostragem apresentaram ausência de crescimento apenas à montante (P3) e jusante (P4) do gasoduto, portanto, foram selecionados em função do resultado negativo. Além disso, optou-se por 8 dos 10 pontos de amostragem restantes que tiveram resultado positivo. Assim, no aqueduto foi coletada água produzida com características que favoreciam o desenvolvimento dos mesmos no ambiente anaeróbio. No oleoduto coletou-se água produzida à montante (P5), óleo (P7) e resíduos à jusante (P6), logo, as características da água produzida contribuíram para o crescimento microbiano e o biofilme formado possibilitou encontrar um alto número de microrganismos pelo método de microplacas ($1,6 \times 10^4$ NMP de MRS/mL e $9,83 \times 10^6$ NMP de BANHT/mL). Nos tanques de água produzida foi amostrada a água em seus drenos, sendo que nos dois tanques analisados encontrou-se um número considerável de microrganismos por meio do método de microplacas ($4,62 \times 10^3$ NMP de MRS/mL e $2,31 \times 10^4$ NMP de BANHT/mL).

5.2. Caracterização Microbiológica

5.2.1 Enumeração de NMP de MRS/mL e NMP de BANHT/mL pelo método tradicional (Cochran, 1950) e método de microplacas de 96 poços (7^o dia)

A enumeração dos microrganismos pelo método tradicional e método de microplacas de 96 poços ao longo das seis campanhas em log (NMP de MRS/mL+2) está representado, respectivamente, nas figuras 5.1 e 5.2 e em log (NMP de BANHT/mL+2) nas figuras 5.3 e 5.4.

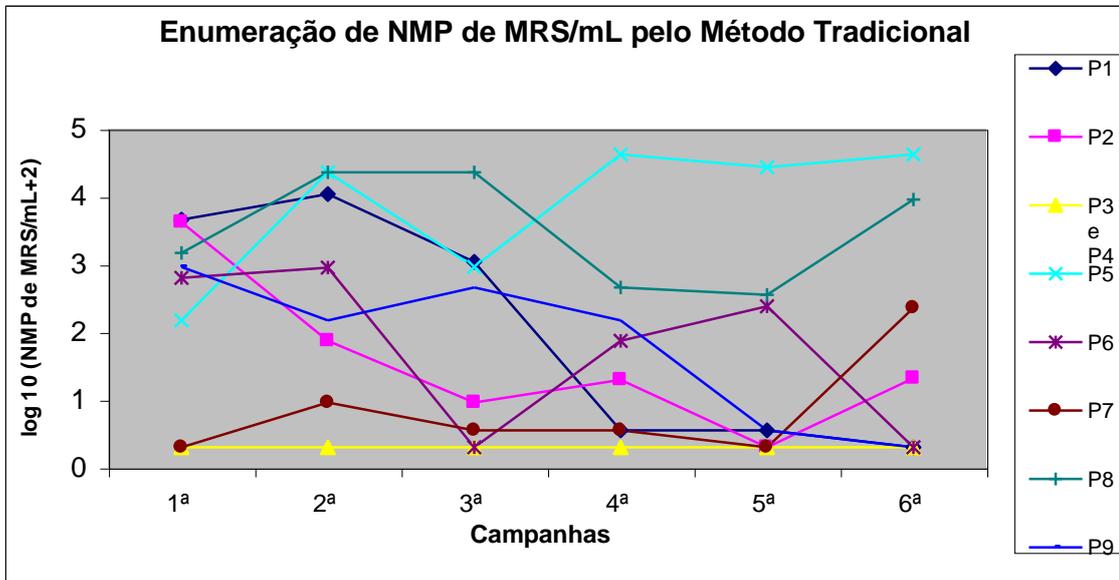


Figura 5.1: Enumeração de NMP de MRS/mL pelo método tradicional, respectivamente para cada ponto de amostragem

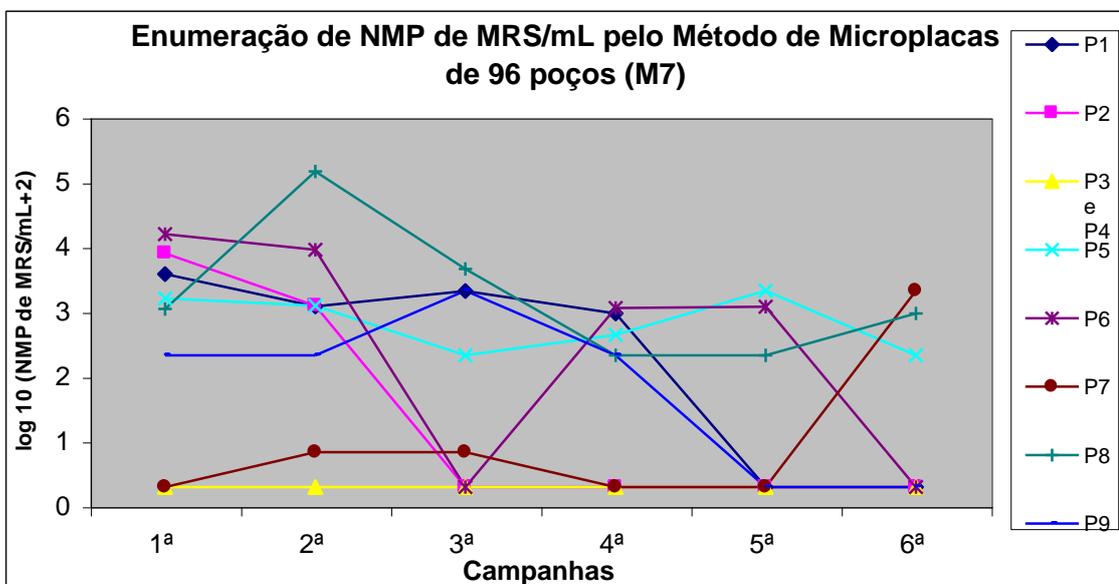


Figura 5.2: Enumeração de NMP de MRS/mL pelo método de microplacas de 96 poços, respectivamente para cada ponto de amostragem

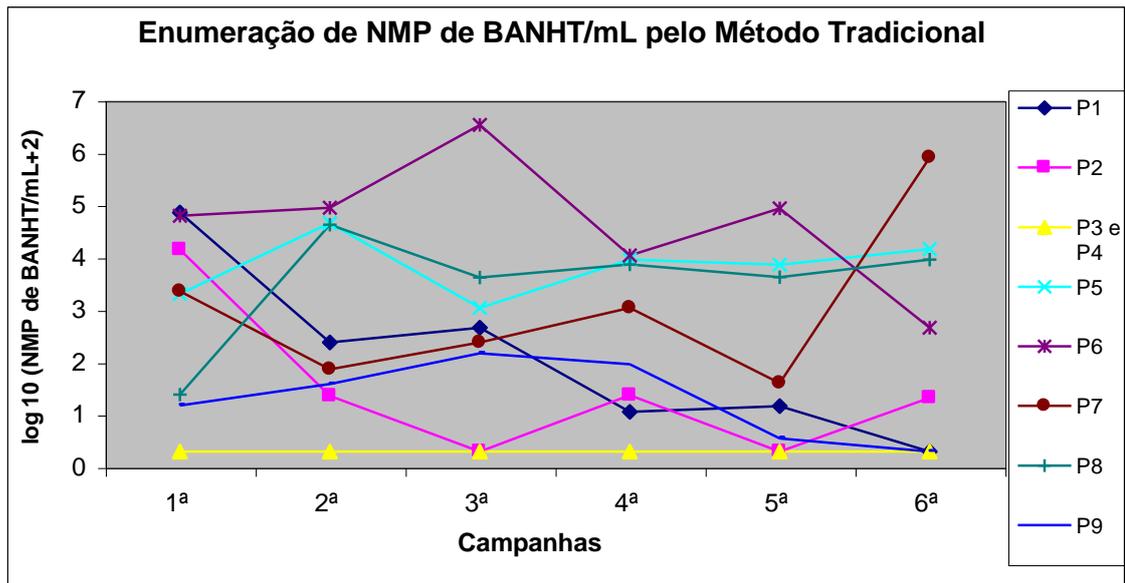


Figura 5.3: Enumeração de NMP de BANHT/mL pelo método tradicional, respectivamente para cada ponto de amostragem

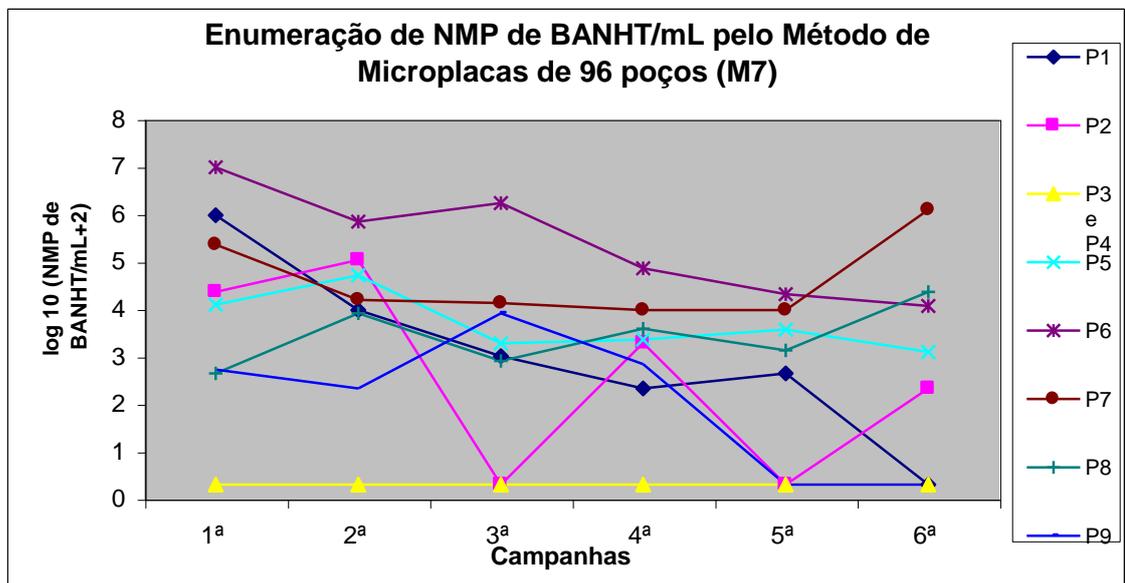


Figura 5.4: Enumeração de NMP de BANHT/mL pelo método de microplacas de 96 poços, respectivamente para cada ponto de amostragem

A contagem de microrganismos redutores de sulfato entre os diferentes pontos de amostra em ambos métodos, tradicional e microplacas, apresentou valores de log variando de 0,3 à 5,17 NMP de MRS/mL em função das diferentes constituições da amostra original. Ainda, a enumeração das bactérias anaeróbias heterotróficas totais

por ambos métodos teve maiores valores com variação na escala logarítmica entre 0,3 até 6,99 NMP de BANHT/mL, pois as BANHT englobam o grupo dos MRS.

O gráfico Box-plot da Figura 5.5 compara o NMP de MRS/mL entre o método tradicional e o método de microplacas de 96 poços (7º dia) em todos os pontos de amostragem.

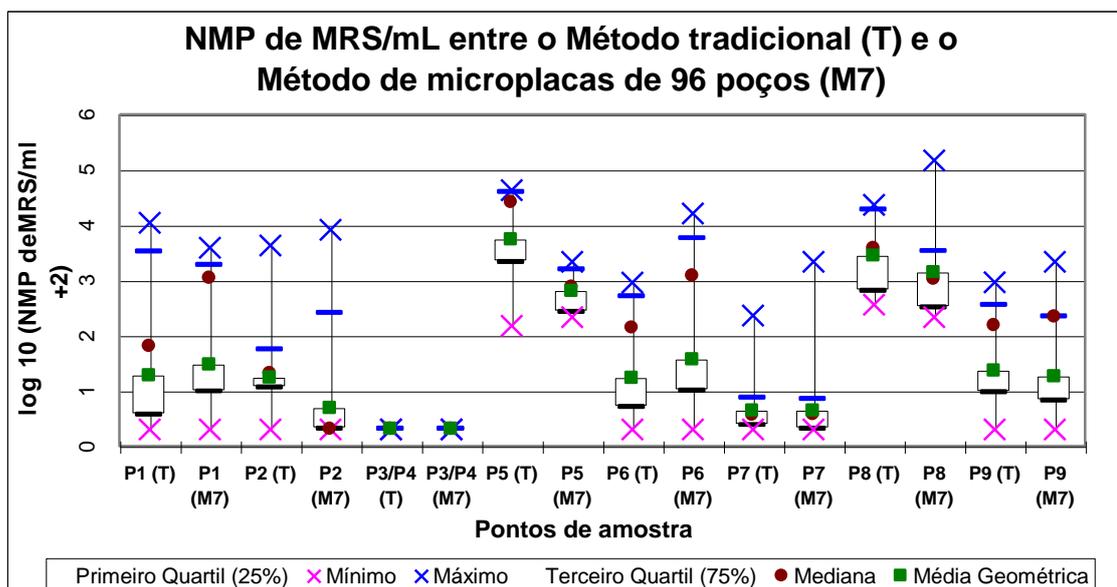


Figura 5.5: Comparação de NMP de MRS/mL entre o Método tradicional (T) e o Método de microplacas de 96 poços (M7), respectivamente para cada ponto de amostragem.

Legenda: T – Método Tradicional; M7 – Método de microplacas de 96 poços com incubação até o 7º dia.

A variação na contagem de MRS entre os diferentes pontos de amostra em ambos métodos deve-se às diferentes constituições da amostra original (água, óleo e resíduo). Os maiores valores encontrados de NMP de MRS/mL foram nos pontos P5 (montante do oleoduto), P6 (jusante do oleoduto), P8 (tanque de água produzida em T6) e P9 (tanque de água produzida em T4), devido a água produzida ter características físico-químicas favoráveis ao desenvolvimento das bactérias. A amostragem em P5 foi da água produzida no fundo do tanque de armazenamento de óleo e em P6 coletou-se resíduo, portanto, verificou-se um alto número de MRS nas fases plantônica e séssil, respectivamente. Em P8 e P9 há um ambiente anaeróbio e rico em sulfato no interior dos tanques de água produzida que favorece o desenvolvimento desses microrganismos.

Verificou-se no gráfico da Figura 5.5 valores médios ligeiramente superiores, mas dentro da mesma unidade logarítmica, para o método de microplacas de 96 poços em relação ao método tradicional no ponto P1 (montante do aqueduto), P6 e P7 (jusante do oleoduto). Para Gibson et al. (1987), a principal crítica ao processo de contagem de células viáveis com tubos múltiplos é que tem subestimado as populações bacterianas presentes em ambientes naturais, que justifica os valores superiores encontrados pelo método de microplacas de 96 poços em relação ao método tradicional. Para os pontos P3 (montante do gasoduto) e P4 (jusante do gasoduto) obteve-se similaridade entre os métodos porque não houve variação. Os demais pontos apresentaram valores maiores pelo método tradicional, porém, dentro da mesma escala logarítmica com resultados próximos, exceto o P2. Assim, observa-se que a correlação entre os dois métodos é altamente significativa.

Infere-se pelo gráfico da figura 5.6 a comparação de NMP de MRS/mL entre o método de microplacas de 96 poços em 7 dias (M7) e o método de microplacas de 96 poços em 28 dias (M28).

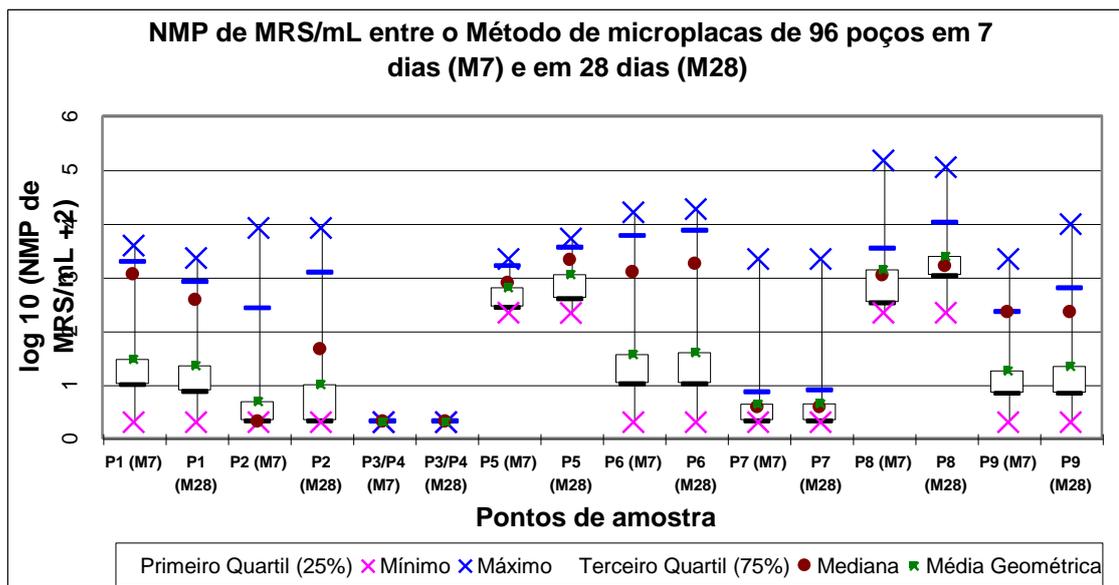


Figura 5.6: Comparação de NMP de MRS/mL entre o Método de microplacas de 96 poços (M7) e Método de microplacas de 96 poços (M28), respectivamente para cada ponto de amostragem.

Legenda: M7 – Método de microplacas de 96 poços com 7 dias de incubação; M28 – Método de microplacas de 96 poços com 28 dias de incubação.

Os valores medianos estão muito próximos estatisticamente entre o 7^o e o 28^o dias pelo método de microplacas de 96 poços (Figura 5.6), que nos leva a considerar o resultado da microplaca no 7^o dia de alta relevância, visto que não há diferença significativa para o resultado no 28^o dia. Assim, é possível utilizar o método de microplacas de 96 poços para obter o resultado em apenas 7 dias.

A comparação entre a contagem de NMP de BANHT/mL pelo método tradicional e método de microplacas de 96 poços (7^o dia) em todos os pontos de amostragem está apresentada no gráfico da Figura 5.7.

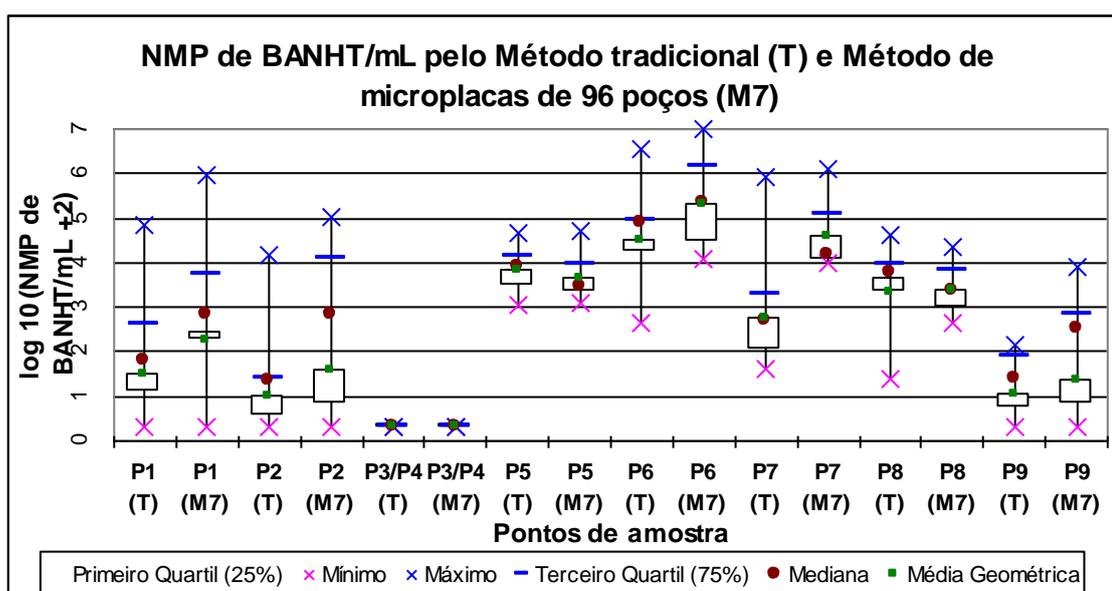


Figura 5.7: Comparação de NMP de BANHT/mL entre o Método tradicional (T) e o Método de microplacas de 96 poços (M7), respectivamente para cada ponto de amostragem.

Legenda: T – Método Tradicional; M7 – Método de microplacas de 96 poços com incubação até o 7^o dia.

Na Figura 5.7 verifica-se a contagem em NMP de BANHT/mL pelo método de microplacas de 96 poços (7^o dia) com uma tendência de obtenção de resultados maiores que MRS, pois BANHT englobam o subgrupo dos MRS. Para a análise de BANHT os maiores valores estão nos pontos P5 (montante do oleoduto) e P8 (tanque de água produzida em T6) e nos pontos P6 e P7 (jusante do oleoduto), que correspondem a amostra de óleo e resíduo de um oleoduto, portanto, existe um ambiente anaeróbio favorável para a formação do biofilme bacteriano que é

removido com a passagem de pig no duto. Nota-se na contagem de BANHT/mL da Figura 5.7 valores médios ligeiramente superiores para o método de microplacas de 96 poços em relação ao método tradicional para o P1 (montante do aqueduto), P2 (jusante do aqueduto), P6, P7 (jusante do oleoduto) e P9 (tanque de água produzida em T4). Para os pontos P3 (montante do gasoduto) e P4 (jusante do gasoduto) foi obtido o mesmo valor para ambos os métodos e nos pontos P5 e P8 o método tradicional teve valores médios um pouco superiores ao método de microplacas em 7 dias, justificado no item 5.2.1.

O gráfico da Figura 5.8 apresenta uma comparação entre o método de microplacas de 96 poços em 7 dias (A7) e o método de microplacas de 96 poços em 28 dias (A28) para o NMP de BANHT/mL.

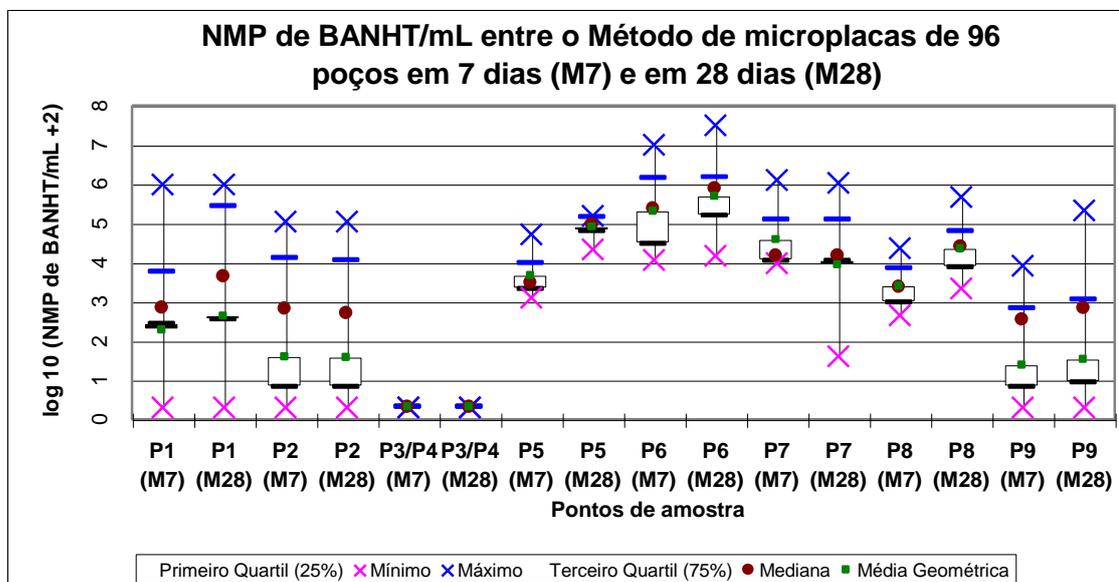


Figura 5.8: Comparação de NMP de BANHT/mL entre o Método de microplacas de 96 poços (M7) e o Método de microplacas de 96 poços (M28), respectivamente para cada ponto de amostragem

Legenda: M7 – Método de microplacas de 96 poços com 7 dias de incubação; M28 – Método de microplacas de 96 poços com 28 dias de incubação.

Os valores obtidos na contagem de BANHT/mL por meio da média geométrica para as microplacas em 7 e 28 dias são próximos em praticamente todos os pontos de amostragem, exceto em P5 (montante do oleoduto) e P8 (tanque de água produzida em T6), que apresentaram valores menores pelo método de microplacas de 96

poços em 7 dias. Este resultado corrobora para afirmar que o método de microplacas de 96 poços pode ser utilizado com apenas 7 dias de incubação das microplacas porque não há diferença significativa para o resultado no 28º dia, permitindo a obtenção do diagnóstico mais rápido de detecção de microrganismos causadores da biocorrosão na indústria do petróleo.

5.2.2 Comparação entre o NMP de MRS/mL e BANHT/mL pelo método tradicional (Cochran, 1950) e método de microplacas de 96 poços (7º dia)

O gráfico da Figura 5.9 compara o NMP de MRS/mL com o NMP de BANHT/mL pelo método tradicional e o gráfico da Figura 5.10 pelo método de microplacas de 96 poços.

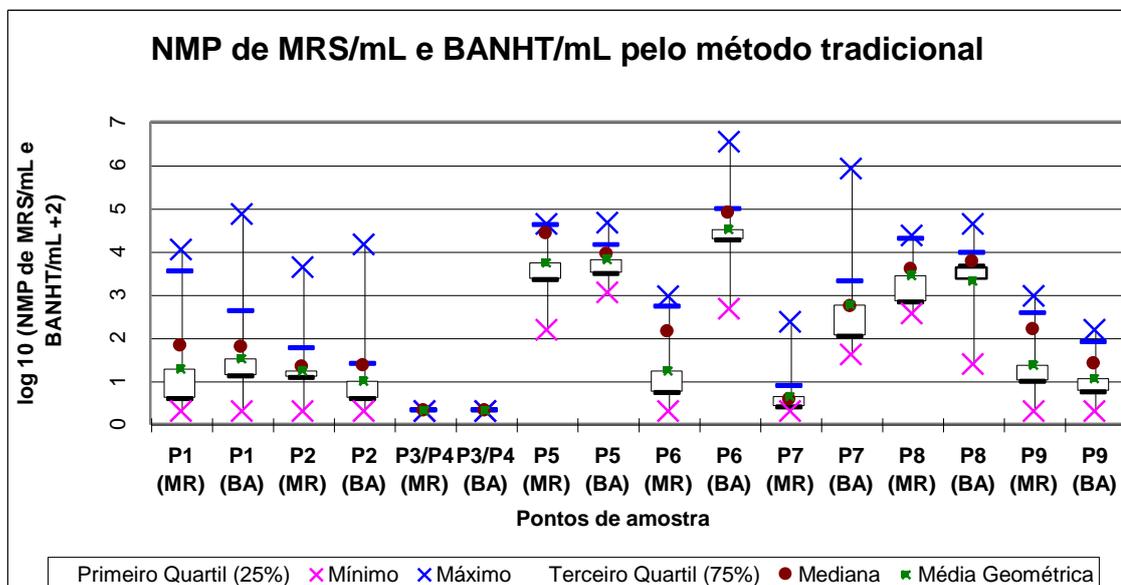


Figura 5.9: Comparação entre NMP de MRS/mL e NMP de BANHT/mL pelo método tradicional (T), respectivamente para cada ponto de amostragem

Legenda: MR – Microrganismos Redutores de sulfato; BA – Bactérias Anaeróbias Heterotróficas Totais

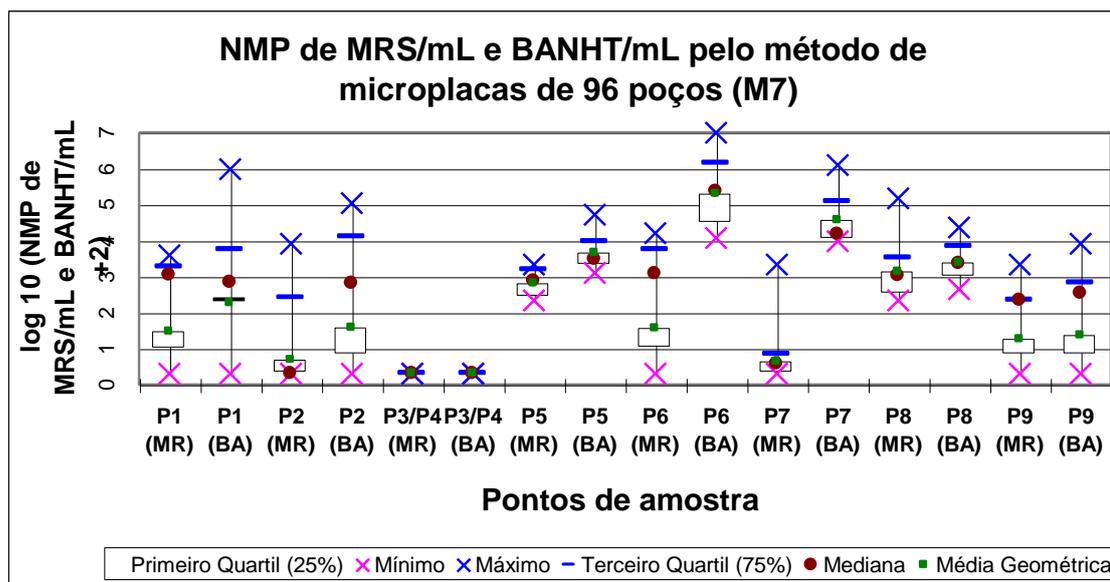


Figura 5.10: Comparação entre NMP de MRS/mL e NMP de BANHT/mL pelo método de microplacas de 96 poços (M7), respectivamente para cada ponto de amostragem

Legenda: MR – Microrganismos Redutores de sulfato; BA – Bactérias Anaeróbias Heterotróficas Totais; M7 – Método microplacas de 96 poços com 7 dias de incubação.

Nota-se maiores valores medianos de NMP/mL de BANHT em relação aos MRS nos pontos de amostragem pelo método tradicional e método de microplacas de 96 poços, porque os MRS constituem um subgrupo dentro das BANHT, pois todos os microrganismos redutores de sulfato são anaeróbios conforme define Postgate (1979). Apenas em P9 (tanque de água produzida em T4) observaram-se valores medianos de BANHT um pouco inferiores aos de MRS pelo método tradicional, mas ambos estão dentro da mesma escala log, por isso, considera-se desprezível a diferença encontrada. Nos pontos P3 (montante do gasoduto) e P4 (jusante do gasoduto) houve equivalência para ambos, pois não foi encontrado nenhum grupo microbiano nesses locais.

5.2.3 Análises Estatísticas

Os dados originais e logaritmizados para MRS encontram-se na Tabela II.1 e Tabela II.2, respectivamente, e os dados brutos e logaritmizados para BANHT, na Tabela II.3 e Tabela II.4, respectivamente, no Apêndice II. Na Tabela II.1 (Apêndice II) observou-se o crescimento de MRS pelo método tradicional variando entre 0 NMP

de MRS/ml até o máximo de $4,26 \times 10^4$ NMP de MRS/mL e pelo método de microplacas de 96 poços entre 0 e $1,60 \times 10^4$ NMP de MRS/mL. Os valores para a quantificação de MRS pelo método tradicional estão dentro da faixa encontrada por diversos autores em água produzida de petróleo, tais como: Sousa (2009) encontrou variação de 10^1 a 10^7 num campo de produção de petróleo *offshore* da Petrobrás; Rocha (2006) obteve valores médios da quantificação celular do inóculo da água de produção de Carmópolis (Sergipe) $1,80 \times 10^6$ NMP de MRS/mL; Davidova et al. (2001) encontrou valores acima de $2,0 \times 10^3$ NMP de MRS/mL em água produzida de poços de petróleo do Canadá.

A primeira pesquisa que realizou a contagem de MRS comparando o método tradicional com o método de microplacas em amostras ambientais foi Lima (2006), avaliando diferentes meios de cultura, sendo que obteve-se o meio Postgate B modificado como o mais apropriado para o crescimento dos microrganismos em microplacas até o 7º dia de incubação. Em seguida, Subtil (2007) aplicou o método de microplacas utilizando o meio Postgate B modificado em amostras de esgoto doméstico de reator UASB e foram encontrados valores médios de $7,6 \times 10^5$ NMP/mL para MRS. Vale destacar que a única pesquisa que utilizou o método de microplacas de 96 poços para amostras de água produzida de petróleo e gás foi Segui (2009), obtendo inicialmente o máximo de $2,0 \times 10^1$ NMP de MRS/mL. Após a adição de lodo de esgoto encontrou um total de $6,48 \times 10^5$ NMP de MRS/mL.

Na Tabela II.3 (Apêndice II) foram obtidos valores variando entre 0 e $3,41 \times 10^6$ NMP de BANHT/mL para o método tradicional e entre 0 e $9,83 \times 10^6$ NMP de BANHT/mL para o método de microplacas de 96 poços (7º dia). Esses resultados corroboram para afirmar que não há variação significativa entre esses métodos. Outros pesquisadores encontraram valores dentro da mesma faixa obtida pelo método tradicional: Rocha (2006) teve valores médios de $9,50 \times 10^5$ NMP de BANHT/mL para a água de produção de Carmópolis (Sergipe) e Santos (2011) valores medianos de BANHT planctônica de $2,1 \times 10^5$ NMP de BANHT/mL em água do mar com o querosene de aviação utilizado como fonte de carbono. Vale ressaltar que não há valores na literatura para a contagem de BANHT pelo método de microplacas de 96 poços, tendo em vista o caráter inovador da pesquisa desses microrganismos no meio científico.

Para obter os valores da média geométrica foram utilizados os dados brutos (não logaritmizados) a fim de comparar o método tradicional com o método de microplacas de 96 poços em 7 dias, como pode ser visualizado na Tabela 5.1.

Tabela 5.1: Enumeração de Microrganismos Redutores de Sulfato (MRS) e Bactérias Anaeróbias Heterotróficas Totais (BANHT) nos diversos pontos amostrais pelo método tradicional e método de microplacas de 96 poços. Valores em NMP/mL (média geométrica) e n=6 (maio a outubro de 2011).

Pontos	MRS (NMP/mL)		BANHT (NMP/mL)	
	Tradicional 28 dias	Microplacas de 96 poços 7 dias	Tradicional 28 dias	Microplacas de 96 poços 7 dias
P1	$2,35 \times 10^2$	$1,76 \times 10^3$	$2,67 \times 10^2$	$3,91 \times 10^3$
P2	$6,56 \times 10^1$	$3,19 \times 10^3$	$1,13 \times 10^2$	$1,69 \times 10^4$
P3	-	-	-	-
P4	-	-	-	-
P5	$7,91 \times 10^3$	$5,39 \times 10^2$	$6,84 \times 10^3$	$4,90 \times 10^3$
P6	$3,24 \times 10^2$	$3,79 \times 10^3$	$3,24 \times 10^2$	$3,79 \times 10^3$
P7	$1,28 \times 10^1$	$4,63 \times 10^2$	$1,07 \times 10^3$	$4,22 \times 10^4$
P8	$2,24 \times 10^3$	$1,19 \times 10^3$	$3,29 \times 10^3$	$2,68 \times 10^3$
P9	$1,27 \times 10^2$	$3,82 \times 10^2$	$3,10 \times 10^1$	$9,16 \times 10^2$

A Tabela 5.1 infere valores médios de contagem de MRS e BANHT entre o método tradicional (28 dias) e o método de microplacas de 96 poços (7 dias) na mesma escala de log ou um pouco superiores para o método de microplacas, justificado pelo grande número de cavidades disponíveis nas microplacas, que torna o resultado obtido mais preciso em relação à técnica convencional (TOWNSEND E NAQUI, 1998). Esses resultados mostram que ambos os métodos podem ser comparáveis, tanto para MRS quanto para BANHT, em função da enumeração obtida ter valores bem semelhantes.

Um ponto importante na verificação da correlação entre ambos métodos analisados é a comparação entre os resultados obtidos pelas microplacas em 7 e 28 dias (Tabela II.1 no Apêndice II) que apresentou valor mínimo idêntico (0 NMP de MRS/mL), e valores máximos muito próximos, variando de $1,60 \times 10^4$ NMP de MRS/mL para microplacas (7 dias) a $1,09 \times 10^5$ NMP de MRS/mL para microplacas (28 dias). Esses resultados demonstram que não há variação significativa entre o 7º e 28º dia de incubação utilizando o método de microplacas de 96 poços para análise de MRS, portanto, pode-se utilizar o método de microplacas de 96 poços com um

reduzido tempo de incubação, que confere um diagnóstico mais rápido e possibilita a intervenção no processo de forma mais específica e ágil.

A comparação entre os resultados encontrados no método de microplacas de 96 poços entre o 7º e o 28º dias de incubação para análise de BANHT demonstrou valores próximos comparando o mínimo e o máximo, com variação de 0 até $9,83 \times 10^6$ NMP de BANHT/mL para o 7º dia e 0 até $3,11 \times 10^7$ NMP de BANHT/mL para o 28º dia, Tabela II.3 no Apêndice II. Esses resultados demonstram que não há variação significativa entre o 7º e o 28º dia de incubação pelo método de microplacas de 96 poços, que implica na redução do tempo de obtenção do resultado da contagem de microrganismos e possibilita um diagnóstico precoce com uma execução mais rápida das formas de controle da biocorrosão nos processos de produção de petróleo.

A aplicação do Teste de Kolmogorov-Smirnov com os dados transformados, logaritmizados ($\text{Log NMP/mL} + 2$), resultou numa distribuição unimodal em todos os pontos de amostragem, com $p=ns$ (não significativo). O teste de Friedmann permitiu comparar globalmente os grupos pareados em todos os pontos de amostragem para MRS e BANHT (Tabela IV.1, Apêndice IV) e demonstrou não existir diferença significativa ($p>0,05$) para MRS, portanto, é possível afirmar que ambos métodos são equivalentes. Em contrapartida, na análise de BANHT, encontrou-se uma diferença significativa ($p<0,05$) entre os métodos para os pontos P1 (montante do aqueduto), P5 (montante do oleoduto), P7 (jusante do oleoduto) e P8 (tanque de água produzida em T6). O P7 refere-se à amostra de resíduo coletado diretamente do duto, onde foi observado que o crescimento de fungos dificultou a leitura dos resultados devido a necessidade de verificação da turvação dos poços. O P1, P5 e P8 apresentaram valores médios relativamente superiores nas microplacas em relação aos frascos que na comparação global contribuem para a diferença significativa entre os dados.

Cabe ressaltar que os valores um pouco superiores para o método de microplacas de 96 poços em relação ao método tradicional é justificado por Gibson et al. (1987) em função do método tradicional subestimar as populações bacterianas presentes em ambientes naturais. Adicionalmente, é importante verificar com mais acurácia a

aplicação do método de microplacas de 96 poços para a análise de BANHT em virtude de não ser um meio seletivo como o meio de cultivo de MRS, portanto, tem maior facilidade para o crescimento de outros tipos de microrganismos que dificultam visualizar a turvação dos poços nas microplacas. Vale ressaltar a importância da continuação da pesquisa científica para estes microrganismos, em função deste estudo ser pioneiro na contagem destes microrganismos utilizando esta técnica.

O teste de Wilcoxon foi empregado para realizar comparações duas a duas a fim de confirmar a semelhança estatística entre os dados obtidos nas análises de MRS (Apêndice IV, Tabela IV.2) e BANHT (Apêndice IV, Tabela IV.3). A Tabela IV.2 infere alta significância ($p > 0,05$) entre o método tradicional e o método de microplacas de 96 poços (7º dia), entre 7 e 28 dias de incubação, 14 e 21 dias de incubação, ou seja, pode-se considerar um resultado de contagem significativo com apenas 7 dias de incubação, comparativamente ao 14º, 21º e 28º dias para todos os pontos de amostragem com a análise de MRS. Não foi possível aplicar o teste com as microplacas (14 e 21 dias) para o P3 (montante do gasoduto), P4 (jusante do gasoduto), P2 (jusante do aqueduto) e P7 (jusante do oleoduto), porque não houve variação entre os dados. Assim, pode-se afirmar que todos os pontos de amostragem possuem valores estatisticamente semelhantes entre si, permitindo a aplicação do método de microplacas de 96 poços para o cultivo de MRS obtendo-se o resultado em menor tempo (7 dias) que a técnica tradicional a fim de garantir maior eficiência no tratamento e prevenção dos problemas de biocorrosão.

Pode-se observar resultados estatisticamente semelhantes ($p > 0,05$) para BANHT na comparação entre o método tradicional e o método de microplacas de 96 poços (7º dia) em quase todos os pontos de amostragem, exceto para os pontos P1 (montante do aqueduto) e P7 (jusante do oleoduto), em que os resultados das placas em 7 dias foram superiores aos dos frascos (Tabela IV.3, Apêndice IV). O P5 (montante do oleoduto) e o P8 (tanque de água produzida em T6) na comparação global de Friedman apresentaram diferenças significativas ($p < 0,05$) na comparação entre frascos e placas em 28 dias, e entre placas em 7 e 28 dias, assim como no teste de Wilcoxon. Porém, o principal objetivo foi comparar os resultados dos frascos em 28 dias com as placas em 7 dias para reduzir o tempo de leitura na obtenção do resultado, então, comparando os mesmos têm-se uma semelhança estatística pelo

teste de Wilcoxon, logo, pode-se comparar o método tradicional com o método de microplacas de 96 poços a fim de se obter o resultado da quantificação das bactérias em 7 dias.

A correlação de Spearman para o método tradicional e microplacas de 96 poços (7 dias, 14 dias, 21 dias, 28 dias) para MRS pode ser observada na Tabela IV.4 (Apêndice IV) e para BANHT na Tabela IV.5 (Apêndice IV). O coeficiente de Spearman r_s indica uma forte associação das variáveis quanto mais próximo de -1 e 1. O valor 0 indica ausência de correlação (PONTES, PONTES Jr., BRAGA, 2010).

Nota-se alta significância na correlação de Spearman para MRS ($p < 0,05$) entre o método tradicional e o método de microplacas (7 dias) em todos os pontos de amostragem, exceto em P1 (montante do aqueduto) e P5 (montante do oleoduto). Portanto, pode-se afirmar que ambos métodos estão relacionados estatisticamente, com forte correlação positiva verificada pelo coeficiente de Spearman ($r_s > 0,8$). O P1 teve uma correlação forte ($0,7 < r_s < 0,89$), contudo o valor de p não foi significativo. Dessa forma, análises estatísticas revelam que a correlação entre os dois métodos é altamente significativa e provavelmente poderá ser utilizado o método de microplacas de 96 poços em substituição ao método tradicional para a contagem de Microrganismos Redutores de Sulfato (MRS), com maior eficiência em termos de economia de espaço, material, simplicidade na execução da análise e redução do tempo para obtenção do resultado.

Os resultados da comparação do método de microplacas em 7 dias e 28 dias para a contagem de MRS demonstrou ser estatisticamente semelhante em função da alta correlação obtida pelo coeficiente de Spearman ($0,75 < r_s < 0,98$) em quase todos os pontos de amostragem, exceto para o P1 (montante do aqueduto) e o P8 (tanque de água produzida em T6). Portanto, essa correlação demonstra um potencial de utilização do método de microplacas de 96 poços para a quantificação dos microrganismos redutores de sulfato num tempo mais curto (7^o dia de incubação).

A correlação de Spearman para BANHT demonstrou valores significativos e uma correlação forte ($0,7 < r_s < 0,89$) e muito forte ($0,9 < r_s < 1,0$) entre as variáveis pelo método tradicional e método de microplacas de 96 poços, comparando-se dois a

dois (frascos 28 e placas 7 dias), (placas 7 e 28 dias) para os pontos P1 (montante do aqueduto), P2 (jusante do aqueduto), P8 (tanque de água produzida em T6) e P9 (tanque de água produzida em T4) (Tabela IV.5, Apêndice IV). Essa comparação para o P5 (montante do oleoduto) resultou numa correlação muito fraca, devido aos valores obtidos pelas placas terem sido superiores na grandeza de 1 log aos valores obtidos pelos frascos (28 dias), propiciando um valor de $p < 0,05$.

Observou-se em todos os pontos de amostragem, exceto em P5, valores significativos e uma forte correlação ao se comparar as placas no 7º e 28º dias, e no 14º e 21º dias, na contagem de BANHT. Para o P1 (montante do aqueduto), P2 (jusante do aqueduto), P3 (montante do gasoduto), P4 (jusante do gasoduto) e P9 (tanque de água produzida em T4) houve uma forte associação entre todas as comparações verificadas. Dado exposto pode-se afirmar que os valores obtidos pelo método de microplacas de 96 poços são comparáveis ao método tradicional porque as análises estatísticas demonstraram uma forte correlação entre os dois métodos, assim como uma altíssima correlação na comparação entre o 7º e o 28º dias de incubação que possibilita obter o resultado em menor tempo (7 dias).

A técnica tradicional para a contagem de MRS e BANHT dificulta uma nova repetição da análise porque requer tempo considerável de incubação e implica na demora para a tomada de decisão, portanto, a atuação rápida caso seja verificado a necessidade de controle da presença de tais microorganismos faz com que os métodos de rápida enumeração tenham sido mais indicados e exigidos para o monitoramento desses microrganismos.

5.3 Verificação da Influência das Variáveis Físico-Químicas no Crescimento Microbiano dos MRS e BANHT

Os resultados experimentais da caracterização físico-química da água produzida estão elementados na forma de figuras com embasamento estatístico, a partir dos valores de média e desvio padrão dos pontos P2 (jusante do aqueduto), P4 (jusante do gasoduto), P8 (tanque de água produzida em T6) e P9 (tanque de água produzida em T4), localizados na Tabela I.1 (Apêndice I) onde também foi observado para o pH, a temperatura e a condutividade uma baixa e média variação, conforme

definido por Mayer (2011). Em relação ao desvio padrão, observaram-se valores relativamente altos quando comparados com a média para os parâmetros sólidos, turbidez, DQO, óleos e graxas, salinidade e alcalinidade, contribuindo para a falta de homogeneização dos dados (Tabela I.1, Apêndice I). Além disso, os gráficos Box-Plot abaixo retratam valores que indicam a correspondência entre as variáveis físico-químicas e o crescimento microbiano.

5.3.1 pH, Temperatura, Oxigênio Dissolvido e Condutividade

Considerando os resultados em todos os pontos de amostragem, verificou-se o valor médio de pH entre 5,60 – 6,63, para a condutividade um valor médio variando de 4,69 à 46,39 uS/cm e para a temperatura valores médios entre 28,33°C<T<33,33°C. Os valores médios para o oxigênio dissolvido variaram de 13,33 à 96,67 ug/L (Figura 5.11).

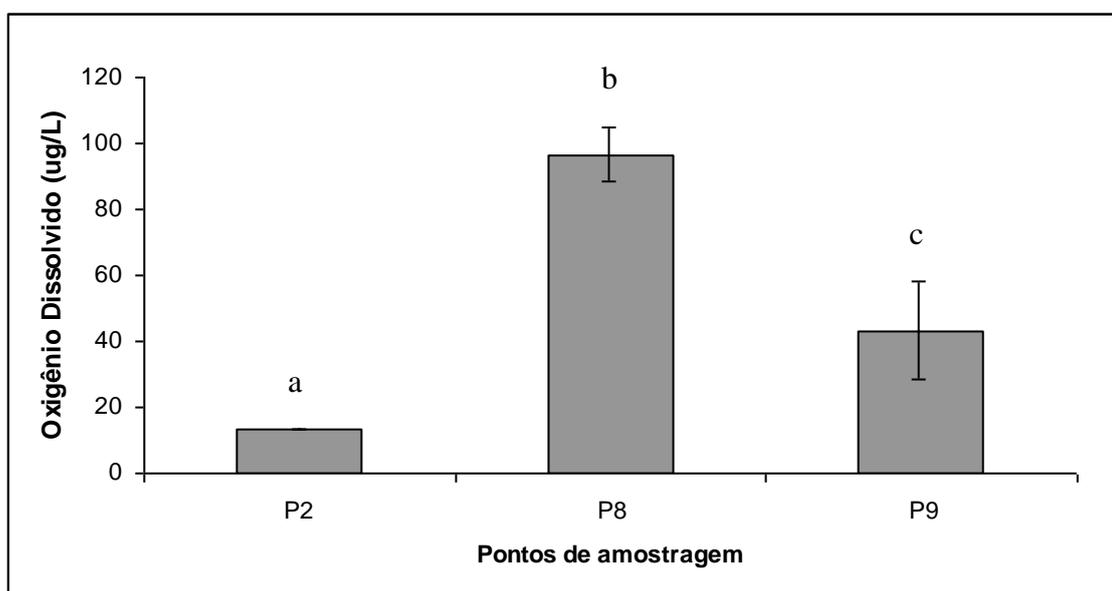


Figura 5.11: Valores médios e desvio padrão para o oxigênio dissolvido (Letras distintas indicam diferença significativa pelo teste de Tukey a 5% de significância, n = 6). Campanha no período de maio à dezembro de 2011.

Nota-se para a variável oxigênio dissolvido uma diferença altamente significativa entre os três pontos de amostragem ($p < 0.01$), que pode ser explicada pela diferente localização dos pontos de coleta dentro das unidades de tratamento de petróleo. O ponto P2 é um aqueduto e possui um ambiente anaeróbico, por isso foram obtidos

menores valores de oxigênio dissolvido. Os pontos P8 e P9 referem-se à saída dos tanques de água produzida que operam com pressão atmosférica, portanto, os percentuais de oxigênio foram um pouco maiores que no aqueduto, propiciando um maior desenvolvimento de microrganismos que no ponto P2.

Os valores comparativos de pH, condutividade e NMP de MRS/mL pelo método tradicional e método de microplacas de 96 poços (7^o dia) podem ser observados no gráfico da Figura 5.12.

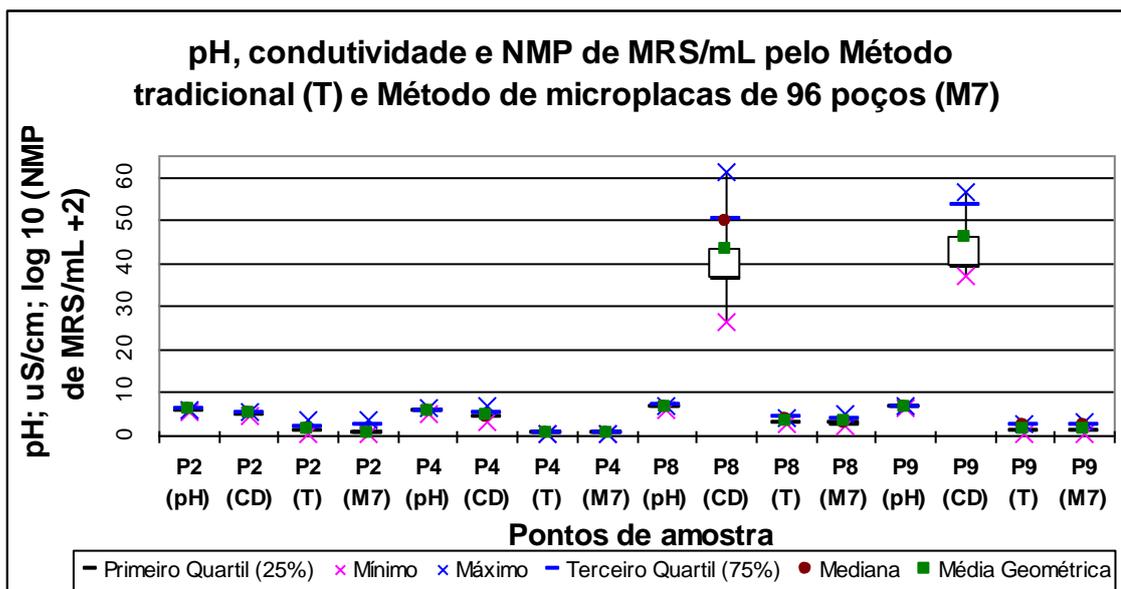


Figura 5.12: Comparação de pH, condutividade e NMP de MRS/mL pelo Método tradicional (T) e Método de microplacas de 96 poços (M7), respectivamente para cada ponto de amostragem.

Legenda: CD –Condutividade; T – Método tradicional; A7 – Método microplacas de 96 poços com 7 dias de incubação.

Para os valores de pH e condutividade no ponto P2 (jusante do aqueduto) e P4 (jusante do gasoduto) e entre P8 (tanque de água produzida em T6) e P9 (tanque de água produzida em T4) não foi observada diferença significativa estatisticamente ($p < 0,01$). Essa situação deve-se às características diversas da água produzida nesses locais, portanto, a água produzida do grupo P2 e P4 possui composição diferente do grupo P8 e P9. Segundo Magot, Ollivier e Patel (2000) valores de pH entre 5,0 e 8,0 fornecem condições adequadas à atividade dos MRS, senão pode haver limitação do seu crescimento. Dessa forma, nos pontos P4 (jusante do

gasoduto) e P2 (jusante do aqueduto) com valor médio de pH menor que 6,0, não se observou crescimento de MRS em P4 e pouco crescimento em P2 quando comparado aos pontos P8 (tanque de água produzida em T6) e P9 (tanque de água produzida em T4) com valor médio de pH maior que 6,0. Nota-se valores médios de condutividade maiores em P8 e P9 (46,39 uS/cm) que em P2 e P4 (4,69 uS/cm), portanto, houve maior crescimento microbiano nesses pontos, associado a valores médios de pH maiores.

Para a variável temperatura não foram observadas diferenças significativas entre P2, P4 e P8, porém o P9 apresentou diferença significativa em relação aos outros três pontos ($p < 0,01$), dado a temperatura deste tanque de água produzida ser um pouco mais alta que nos outros pontos. A relação da temperatura implica no aumento dos valores da condutividade do eletrólito e da velocidade de difusão dos íons (Gentil, 2003). Por isso, ocorreu maior crescimento microbiológico em P8 e P9 em relação a P2 e P4 que propiciaram a maior difusibilidade dos íons sulfato no meio.

5.3.2 Turbidez, Teor de Óleos e Graxas (TOG) e Sólidos

A variável turbidez indicou valores medianos de 51,60 à 863,29 NTU e o teor de óleos e graxas valores medianos de 15,50 à 170,50 mg/L. De forma geral, os sólidos suspensos totais e voláteis apresentaram valores medianos de 0,30 à 0,37 mg/L (Figura 5.13), os sólidos totais e os sólidos totais voláteis valores medianos de 3,01 à 118,35 mg/L (Figura 5.14).

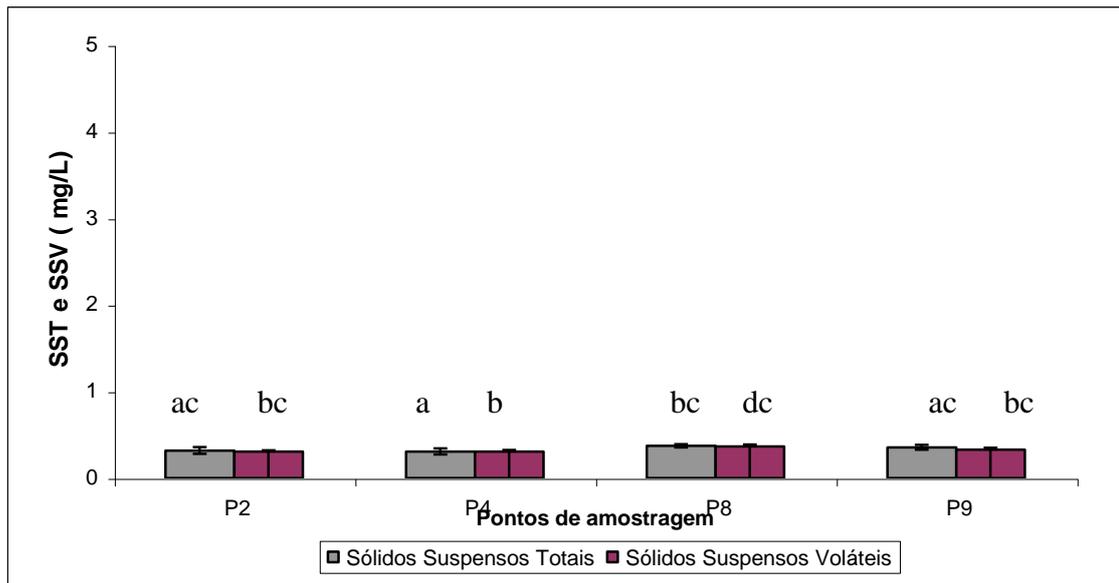


Figura 5.13: Valores médios e desvio padrão para SST e SSV (Letras distintas indicam diferença significativa pela ANOVA (teste de Friedmann) a 5% de significância para n=6). Campanha no período de maio à dezembro de 2011.

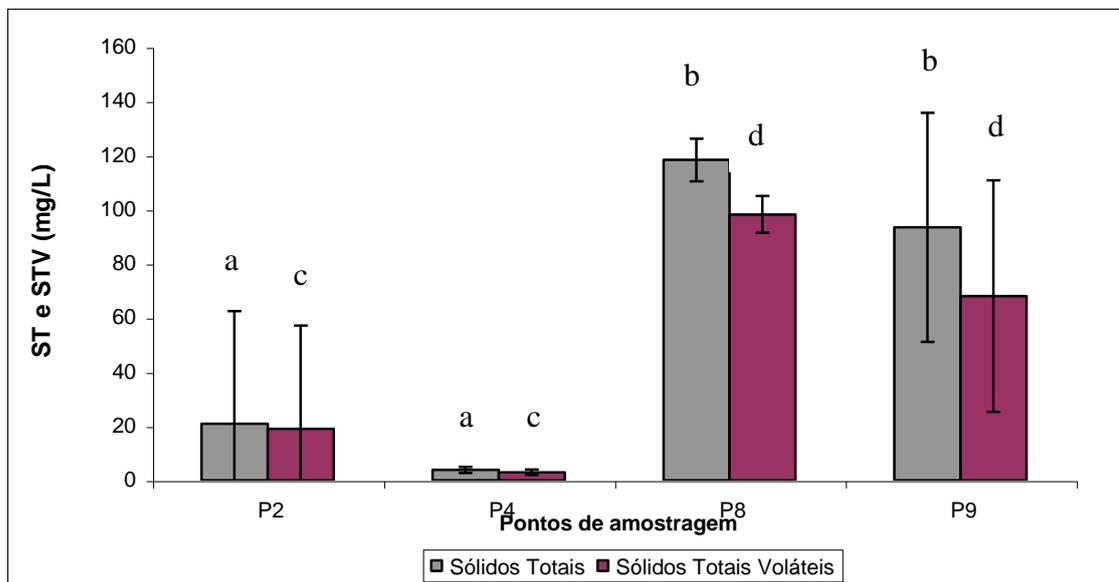


Figura 5.14: Valores médios e desvio padrão para ST e STV (Letras distintas indicam diferença significativa pelo teste de Tukey a 5% de significância para n=6). Campanha no período de maio à dezembro de 2011.

A análise dos valores de sólidos suspensos totais e sólidos suspensos voláteis demonstraram existir diferença significativa entre o P4 e o P8, porque em P4 a água não teve tratamento e em P8 a água produzida está tratada. Contudo, obteve-se

diferença significativa entre os grupos P2 (jusante do aqueduto) e P4 (jusante do gasoduto) e o P8 (tanque de água produzida em T6) e P9 (tanque de água produzida em T4) para sólidos totais e sólidos totais voláteis, tendo em vista as variações existentes na composição físico-química da água produzida nos dois grupos, conforme explicado no item 5.1.1.

Em geral, a literatura relata valores de sólidos suspensos de 56 mg/L (Andrade, 2009) e de até 200 mg/L (Souza, 2009; Gomes, 2009). Segui (2009) obteve valores médios de 0,0145 mg/L para os sólidos suspensos. Vale ressaltar que foram obtidos valores medianos variando de 0,10 a 0,18 mg/L para P2 e P4, e valores médios de 0,38 e 0,24 mg/L para P8 e P9, respectivamente. Dado exposto, pode-se afirmar que os altos valores de sólidos totais nos pontos P8 e P9 podem causar a obstrução dos reservatórios. Vale ressaltar que observou-se maior crescimento microbiano em P8 e P9 em função dos maiores valores de sólidos totais que correspondem à fonte de carbono para o metabolismo microbiano.

Não foi observada diferença significativa entre P8 (tanque de água produzida em T6) e P9 (tanque de água produzida em T4) para a variável turbidez devido à sua localização no final do processo de tratamento da água produzida, que justifica os menores valores encontrados em relação aos pontos P2 (jusante do aqueduto) e P4 (jusante do gasoduto) que recebem água produzida sem tratamento. No ponto P4, a turbidez pode ser explicada pela injeção de produtos químicos no duto, tendo em vista que até a chegada da água produzida no final do duto não houve separação física entre a água e o LGN. A emulsão água-óleo influencia a avaliação da turbidez porque a água produzida torna-se leitosa, reduzindo sua transparência e proporcionando sua turvação, em função das partículas e de produtos químicos residuais utilizados na desestabilização de emulsões óleo/água (CERQUEIRA; MARQUES, 2011).

A variável TOG demonstrou existir diferença significativa entre o P8 (tanque de água produzida de T6) e os demais pontos em função de algumas coletas realizadas com o flotor fora de operação, ou seja, obteve-se valores de TOG maiores em três das seis repetições realizadas, propiciando o alto desvio padrão comparado aos demais pontos analisados. Segundo Santos et al. (2007) para a reinjeção em poços de

petróleo, a água deverá ter no máximo 5 mg/L de óleos e graxas para evitar a contaminação e/ou incompatibilidade entre a água que está sendo injetada e a água do aquífero, que compromete a injeção da água no reservatório. Portanto, em função de toda água produzida nos diferentes pontos analisados ter como destino final a reinjeção em poços terrestres foram obtidos valores médios superiores ao recomendado para a reinjeção. Então, é fundamental tornar o tratamento da água produzida mais eficaz para reduzir a perda de produção do óleo e evitar problemas de contaminação do aquífero. Adicionalmente, observou-se maior crescimento microbiano em P8 e P9 onde foram obtidos maiores valores de TOG que servirão de fonte de carbono para o metabolismo microbiano.

5.3.3 Ferro, Salinidade, Dureza e Alcalinidade

Para a variável ferro solúvel obteve-se valores médios de 2,5 mg/L à 5,0 mg/L e para a salinidade valores médios entre 32,27 e 106,33 g/L. A variável dureza apresentou valores médios de 0 a 297,42 mg/L (Figura 5.15) e para a alcalinidade valores medianos de 174,06 até 337,82 mg/L CaCO₃ (Figura 5.16).

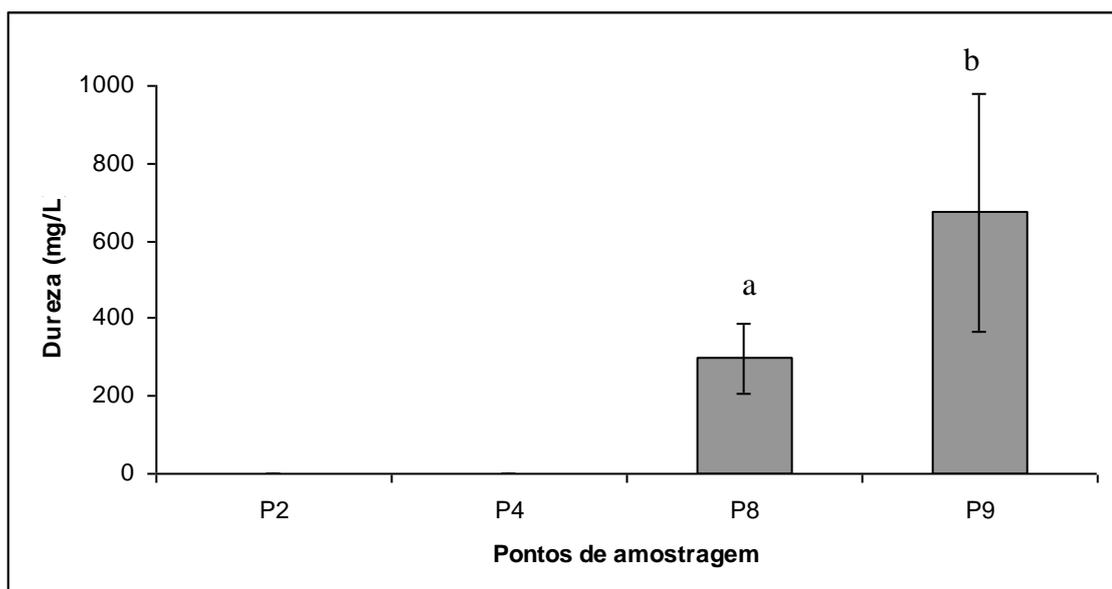


Figura 5.15: Valores médios e desvio padrão para a dureza (Letras distintas indicam diferença significativa pelo teste de Tukey a 5% de significância para n=6). Campanha no período de maio à dezembro de 2011.

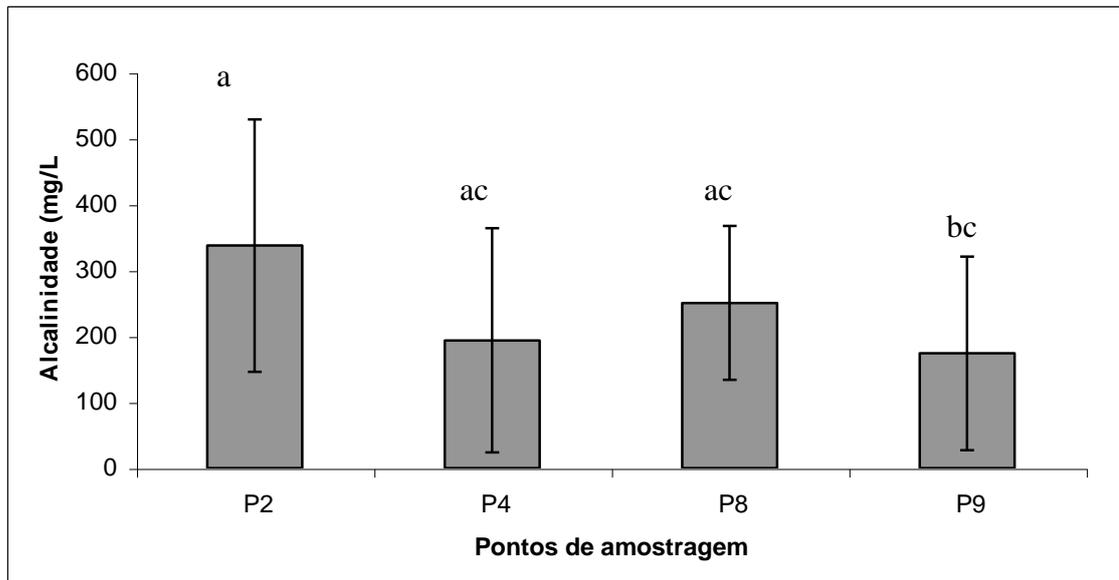


Figura 5.16: Valores médios e desvio padrão para a alcalinidade (Letras distintas indicam diferença significativa pela ANOVA (teste de Friedman) a 5% de significância para $n=6$). Campanha no período de maio à dezembro de 2011.

O conhecimento dos valores relativos às variáveis ferro, salinidade, dureza e alcalinidade são importantes para prevenir problemas de incrustações de tubulações que culmina com a perda de produção e altos custos para a reparação do dano. Para a alcalinidade verificou-se que não há diferença significativa entre as medianas dos valores de alcalinidade nos diferentes pontos, apenas entre P2 e P9, porque o P9 recebe água produzida com origem diferente da água recebida em P4, P2 e P8, pois até mesmo P8 contém a água produzida tratada proveniente também de P2 e P4. Andrade (2009) realizou a caracterização da água produzida e obteve uma faixa de 150 e 1232 mg/L de CaCO_3 . Joubert (2004) afirma que o controle físico-químico para a alcalinidade no tratamento de sistemas de resfriamento industrial deve ter no máximo 400 mg/L CaCO_3 . Nos pontos analisados a alcalinidade teve o maior valor médio de 330,45 mg/L CaCO_3 , então, a princípio não requer tratamento para evitar problemas de incrustação.

A variável dureza apresentou diferença significativa entre o ponto P8 e P9 porém ambos são classificados contendo água muito dura, conforme Custódio e Llamas (1983). A dureza não foi detectada nos pontos P2 e P4. Parente (2006), Souza (2007) encontraram valores entre 20 mg/L e 7 g/L de dureza na água produzida.

O aumento da alcalinidade do meio implica no aumento do valor da dureza, porque na faixa de pH entre 4,4 e 8,3 encontram-se apenas bicarbonatos no meio e conseqüentemente maior será sua dureza (OLIVEIRA, 2007). Nota-se valores altos de alcalinidade nos pontos P2 e P4, apesar da dureza não ter sido detectada nesses pontos em função da alta alcalinidade, ou seja, os bicarbonatos funcionam como tampão no meio que podem ter impedido a ação dos reagentes durante a análise para determinar a dureza.

A água produzida apresenta composição variada para a salinidade que depende das características e profundidade do campo produtor de óleo (GOMES, 2009). A variável salinidade influencia diretamente no crescimento dos microrganismos porque cada tipo se desenvolve numa faixa determinada de salinidade, então, se houver modificação dessa variável poderá afetar o desenvolvimento dos mesmos. Foi observada diferença altamente significativa ($p < 0,01$) entre os grupos P2 (jusante do aqueduto) e P4 (jusante do gasoduto) e o grupo P8 (tanque de água produzida de T6) e P9 (tanque de água produzida de T4) devido às características diferentes da água produzida em cada ponto, conforme descrito no item 5.3.1. Dessa forma, pode-se observar que os microrganismos presentes em P2 e P4 desenvolvem-se na faixa de salinidade abaixo de 8g/L e nos pontos P8 e P9 em valores acima de 100 g/L. Vale destacar que a alta salinidade observada nos pontos P8 e P9 pode causar incrustações nos poços com prejuízos à indústria do petróleo.

Para a variável ferro não houve diferença significativa entre os pontos analisados ($p = 0,7059$). Gomes (2009) encontrou uma faixa de resultado entre 0,2 mg/L à 46,2 mg/L para o ferro solúvel na água produzida coletada em Sergipe/Alagoas. Obteve-se valores maiores de ferro solúvel na água nos pontos P2 (jusante do aqueduto), P8 (tanque de água produzida em T6) e P9 (tanque de água produzida em T4), onde se verificou o crescimento bacteriano.

5.3.4 Sulfato e Sulfeto

A variável sulfato da água produzida dos diversos pontos de amostragem apresentou uma variação média de 10,31 mg/L até 71,61 mg/L e o sulfeto avaliado na fase líquida de 2,65 mg/L à 10,26 mg/L (Figura 5.17).

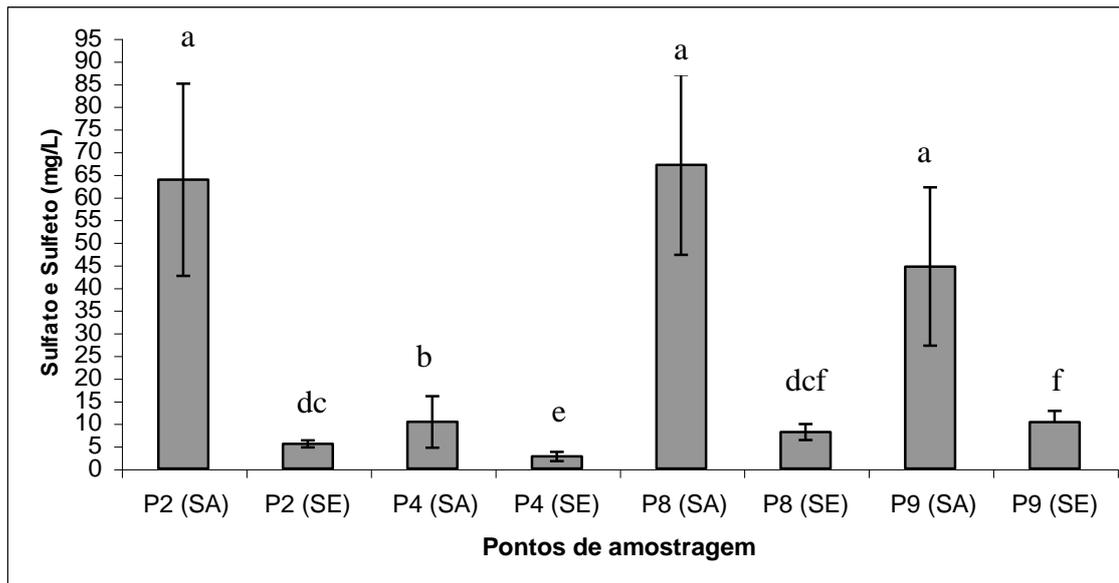


Figura 5.17: Valores médios e desvio padrão para sulfato e sulfeto (Letras distintas indicam diferença significativa pelo teste de Tukey a 5% de significância para n=6). Campanha no período de maio à dezembro de 2011.

Legenda: SA = Sulfato; SE = Sulfeto.

A variável sulfato demonstrou não existir diferença significativa nos pontos P2 (jusante do aqueduto), P8 (tanque de água produzida de T6) e P9 (tanque de água produzida de T4) entre si ($p > 0,05$), apenas há diferença estatística entre o P4 (jusante do gasoduto) e o restante dos pontos, pois P4 é constituído de água produzida vinda de reservatórios de gás e contendo adição de produtos químicos, com valores mais baixos de sulfato que nos outros pontos. Para o sulfeto na fase líquida, observou-se que não há diferença significativa ($p = ns$) entre o P8 e o P9, porque ambos estão localizados no final do processo de tratamento de água produzida derivada de reservatórios de óleo terrestre, portanto, espera-se uma produção equivalente de sulfeto. Esses altos teores de sulfeto podem provocar a acidificação biogênica dos reservatórios e obstruir os poços injetores e produtores pela deposição de FeS, que ocasiona a redução da produtividade dos poços e causa a corrosão das tubulações e equipamentos de todo o sistema. O sulfeto de hidrogênio em solução é um ácido fraco e se dissocia como descrito nas Reações 5.1 e 5.2.



O H_2S pode estar presente na fase gasosa ou dissolvida, porém, com valores de pH 5,0 somente 1% está na forma de HS^- . Se o pH está acima de 8,0 não se encontra na forma não dissociada (H_2S). Já em pH 7,0, 50% do sulfeto encontra-se na forma não dissociada (H_2S) (SUBTIL, 2007). Portanto, à medida que o pH torna-se mais básico, maior será a dissociação do sulfeto na forma de H_2S (gasoso). Os pontos P8 e P9 possuem valores de pH próximo a 7,0 e os pontos P2 e P4, valores médios de pH menores que 6,0 que contribui para o valor de sulfeto na fase líquida ser menor que em P8 e P9. Em P2 encontrou-se microrganismos redutores de sulfato que produzem H_2S , portanto, como a análise realizada foi de sulfeto em fase líquida com pH abaixo de 6,0, obteve-se um teor de sulfeto mais baixo que em P8 e P9 onde detectou-se maior número de microrganismos redutores de sulfato. Em P4 não foram encontrados microrganismos redutores de sulfato, então, provavelmente o baixo valor de sulfeto dissolvido na água produzida não tem origem biogênica.

Inferem-se os valores de sulfato, sulfeto e NMP de MRS/mL pelo método tradicional e método de microplacas de 96 poços (7º dia) no gráfico da Figura 5.18.

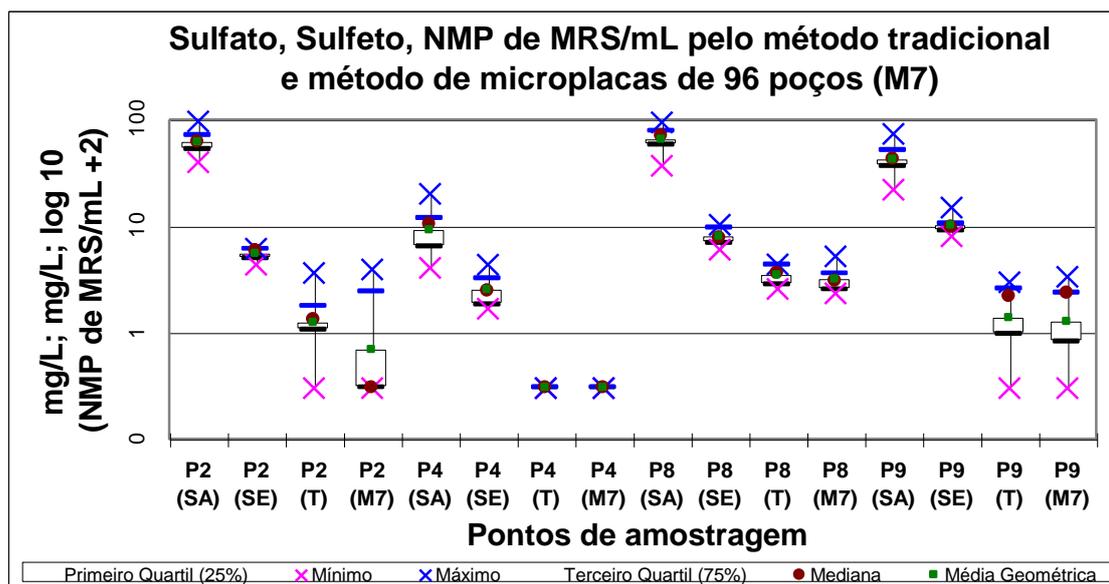


Figura 5.18: Valores de sulfato (mg/L), sulfeto (mg/L) e NMP de MRS/mL pelo Método tradicional (T) e Método de microplacas de 96 poços (M7), respectivamente para cada ponto de amostragem.

Legenda: SA – Sulfato; SE – Sulfeto; T – Método tradicional; A7 – Método microplacas de 96 poços com 7 dias de incubação.

Nos pontos P2 (jusante do aqueduto), P8 (tanque de água produzida em T6) e P9 (tanque de água produzida em T4) observou-se o crescimento bacteriano em virtude dos maiores valores de sulfato entre 42mg/L e 71 mg/L, assim como os valores médios de sulfeto acima de 5 ppm, que são considerados problemáticos para a biocorrosão de tubulações e equipamentos, conforme observado na prática. Andrade (2009) obteve valores muito variados para o sulfato (<50 mg/L e < 500 mg/L) para amostras coletadas à jusante do flutador de um sistema de tratamento de água produzida no terminal da Petrobrás em São Sebastião. Verifica-se no gráfico da Figura 5.18 uma correlação entre a disponibilidade de sulfato para o crescimento das bactérias e a conseqüente produção de sulfeto pelo seu metabolismo, portanto, o desenvolvimento da corrosão nos pontos P2, P8 e P9 possui origem biogênica. Nota-se que no ponto P8 verificou-se maior crescimento de MRS, porque é o local com condições mais favoráveis ao seu desenvolvimento, juntamente com o P9. Maiores valores de sulfato foram encontrados em P2, P8 e P9, que fornecem condições para o crescimento dos MRS, no entanto, os baixos valores em P4 para o sulfato (10mg/L) e sulfeto (2,65 mg/L) corroboram para a ausência dos microrganismos. Vale ressaltar que valores de sulfeto de 3 ppm são suficientes para afetar a produção de petróleo, conforme observado na prática, porque interfere na especificação do GLP (Gás liquefeito de petróleo). Dessa forma, além de problemas relacionados à corrosão das tubulações mesmo que não seja de origem biogênica, pode-se ter grandes prejuízos em relação à venda do produto final numa unidade de tratamento de gás.

5.3.5 Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO) e Demanda Química de Oxigênio (DQO)

A Figura 5.19 apresenta valores médios de DBO variando entre 1153 mg/L e 2113 mg/L nos pontos P2, P8 e P9 e a Figura 5.20 os valores médios de DQO de 3562 mg/L à 11535 mg/L para P4, P2, P8 e P9.

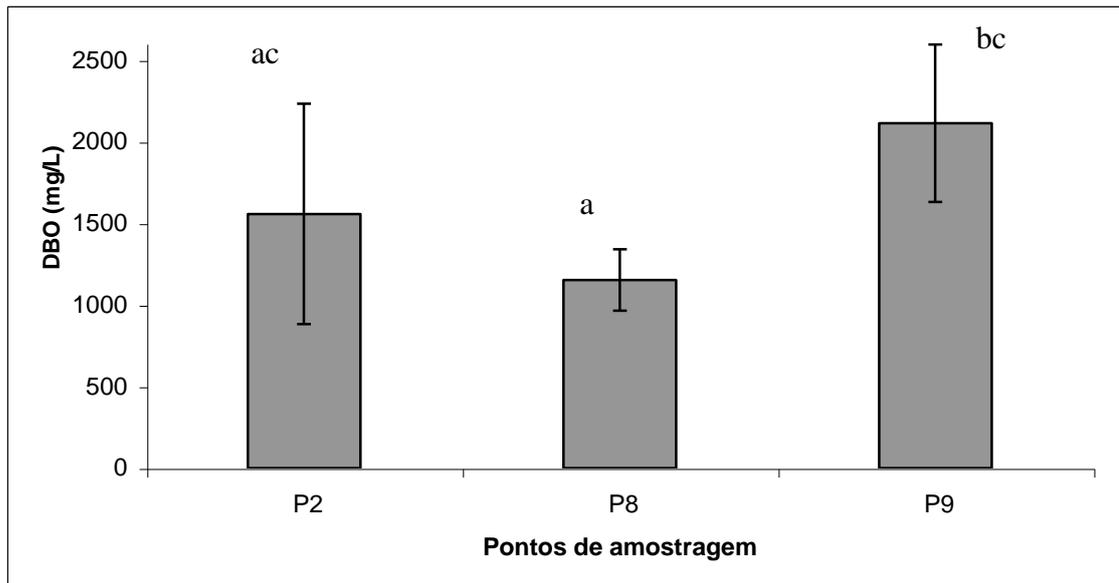


Figura 5.19: Valores médios e desvio padrão para Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO). Letras distintas indicam diferença significativa pelo teste de Tukey a 5% de significância para $n=6$. Campanha no período de maio à dezembro de 2011.

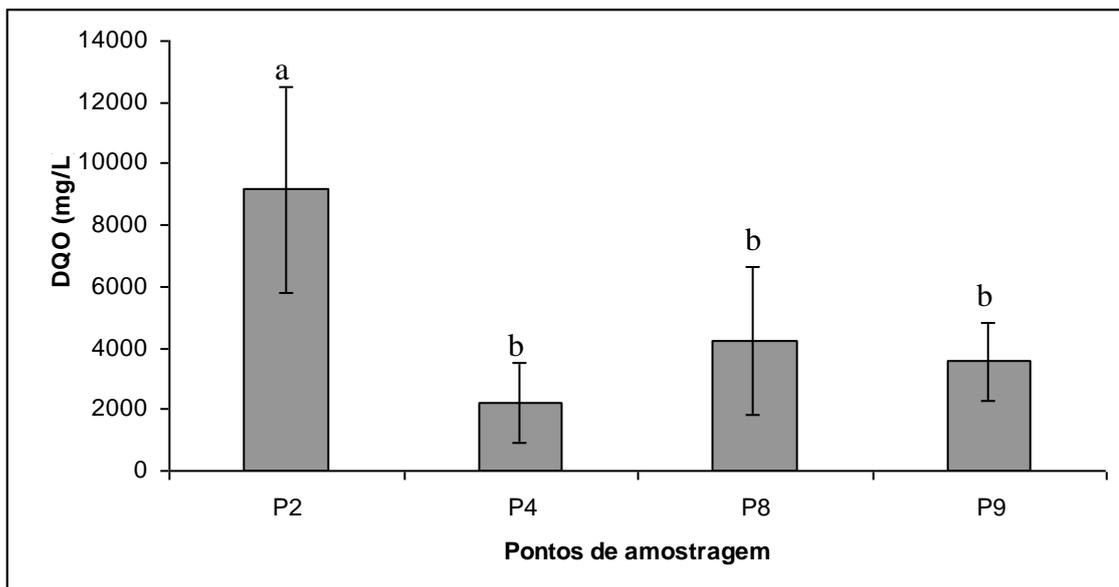


Figura 5.20: Valores médios e desvio padrão para Demanda Química de Oxigênio (DQO). Letras distintas indicam diferença significativa pelo teste de Tukey a 5% de significância para $n=6$. Campanha no período de maio à dezembro de 2011.

Não foi possível detectar valores para a DBO no ponto P4 (jusante do gasoduto) provavelmente devido à toxidez da amostra que dificultou a avaliação da DBO pela baixa biodegradabilidade. Foi verificada uma diferença significativa ($p<0,05$) entre as

médias de P8 (tanque de água produzida em T6) e P9 (tanque de água produzida em T4), que pode ser explicado pela variação na composição da matéria orgânica presente na água produzida nesses pontos, considerando reservatórios de óleo localizados em regiões distintas. Para a variável DQO foi obtida uma diferença significativa ($p < 0,05$) entre o P2 e os outros pontos (P4, P8 e P9). Para o ponto P2 possivelmente os valores de DQO estão diretamente relacionados aos altos valores da turbidez. Em P8 e P9, a DQO pode vir principalmente do teor de sólidos totais e em P4 pela injeção de produtos químicos no duto e teor de óleos e graxas que contribuem também para a turvação da água.

Quadro 5.1: Relação DQO/DBO

Pontos de Amostragem	Relação DQO/DBO
P2	5,88
P8	3,65
P9	1,68

A problemática de avaliar a DBO possivelmente deve-se à inibição dos microrganismos devido à alta toxicidade referente aos produtos químicos adicionados ao longo do duto para o ponto P4. A alta relação encontrada DQO/DBO (Quadro 5.1) indica a biodegradabilidade da matéria orgânica do meio nos pontos P2, P8 e P9, que não foi suficiente para inibir o crescimento dos microrganismos.

Segundo von Sperling (1996) a relação entre os valores de DQO e DBO varia de acordo com as características do esgoto e à medida que passa pelas diversas etapas do tratamento. Para águas residuais de origem doméstica, as relações entre a DQO/DBO variam de 1,7 a 2,4. Comparativamente com os valores da relação para o esgoto doméstico pode-se observar que os pontos P8 e P9 possuem biodegradabilidade mais elevada que P2, o que explica o maior crescimento microbiano neste pontos.

Os valores de DQO, DBO, sulfato e NMP de MRS/mL pelo método de microplacas de 96 poços (7º dia) podem ser visualizados no gráfico da Figura 5.21. O ponto P4 não possui os valores de DBO porque não foi possível realizar a análise.

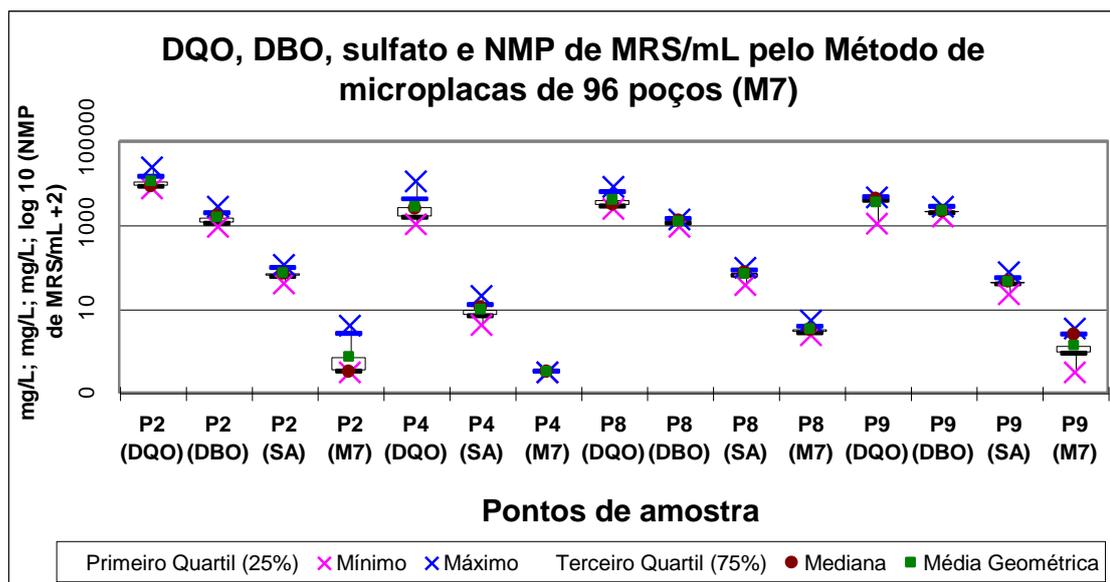


Figura 5.21: Comparação entre os variáveis DQO, DBO, Sulfato e NMP de MRS/mL pelo método de microplacas de 96 poços (M7), respectivamente para cada ponto de amostragem.

Legenda: DQO – Demanda Química de Oxigênio; DBO – Demanda Bioquímica de Oxigênio; SA – Sulfato; A7 – Método microplacas de 96 poços com 7 dias de incubação.

Na Figura 5.21 visualiza-se que os pontos P2 (jusante do aqueduto), P8 (tanque de água produzida em T6) e P9 (tanque de água produzida em T4) tem valores de DBO altos, ou seja, há matéria orgânica disponível biodegradável para ser consumida pelos microrganismos como fonte de carbono em seu metabolismo. Adicionalmente, verifica-se a importância do íon sulfato para o crescimento dos microrganismos, pois o ponto P4 possui altos valores de DQO e baixos valores de sulfato, dentre outras condições não favoráveis, por isso, não houve crescimento de MRS. A DQO em P8 e P9 é um pouco menor que em P4, contudo, o sulfato disponível é maior, dentre outras condições favoráveis, favorecendo o crescimento dos MRS. Além disso, quanto maior a relação DBO/DQO implica em maior quantidade de matéria orgânica biodegradável para ser utilizada pelos microrganismos que contribui para o desenvolvimento da biocorrosão. Obteve-se uma relação DBO/DQO média de 0,15 para P2, 0,32 para P8 e 0,70 para o P9, portanto, observou-se maior crescimento microbiano nos pontos P8 e P9 que obtiveram maior relação DBO/DQO.

5.3.6. Matriz de correlação entre os Parâmetros Físico-Químicos e Microbiológicos

A correlação entre as variáveis físico-químicas e microbiológicas pelo método tradicional e o método de microplacas de 96 poços (7º dia) para análise de contagem de MRS nos pontos P2 (Quadro III.1), P4 (Quadro III.2) que possui os mesmos resultados para BANHT, P8 (Quadro III.3) e P9 (Quadro III.4) e BANHT nos pontos P2 (Quadro III.5), P8 (Quadro III.6) e P9 (Quadro III.7) estão evidenciadas no Apêndice III.

5.3.6.1 Matriz de Correlação para P2 (Jusante do Aqueduto)– MRS e BANHT

O aumento da temperatura leva ao aumento da condutividade dos íons sulfato no meio que possibilita o maior crescimento microbiológico dos MRS, conseqüentemente, maior será a geração de sulfeto com aumento também do crescimento das BANHT, por isso, há alta correlação positiva entre a temperatura e o sulfato ($r_s = 0,971$), a condutividade e o teor de sulfeto ($r_s = 0,829$), nas análises de MRS e entre o sulfato e o sulfeto para BANHT ($r_s = 0,812$).

Uma alta correlação positiva ocorreu entre o método tradicional e o método de microplacas de 96 poços (7º dia), tanto para MRS ($r_s = 0,912$) quanto BANHT ($r_s = 0,824$), ou seja, à medida que um valor de contagem de microrganismos cresce no método tradicional há uma forte tendência do valor também crescer pelo método de microplacas de 96 poços.

A faixa de pH entre 6 e 9 possibilita maior crescimento dos microrganismos, por isso houve correlação positiva entre o pH e os métodos tradicional ($r_s = 0,812$) e método de microplacas de 96 poços ($r_s = 0,986$) para crescimento de BANHT que precisam de matéria orgânica para se desenvolver, portanto, ocorrerá a redução dos sólidos suspensos presentes no meio. Assim, foi observada uma correlação negativa ($r_s = -0,928$) entre o pH e a quantidade de sólidos suspensos no meio nas análises de MRS.

Nota-se uma correlação forte negativa entre a alcalinidade e o NMP de MRS/mL ($r_s = -0,812$) e entre a amônia e o NMP de MRS/mL ($r_s = -0,812$) pelo método de

microplacas de 96 poços (7^o dia), pois quanto maior o valor da alcalinidade, há uma tendência na redução do crescimento destes microrganismos devido a exclusão competitiva com as BRN's que promove a redução do nitrato aumentando o valor do nitrogênio amoniacal. Para Voordouw (2008), Garcia-de-Lomas et al. (2007) na presença de nitrato ocorre o crescimento de BRN's, que em maior número podem competir mais intensamente por fontes de carbono, dificultando o crescimento dos MRS.

5.3.6.2 Matriz de Correlação para P4 (Jusante do Gasoduto)– MRS e BANHT

No ponto P4 não houve correlação entre os parâmetros físico-químicos e o crescimento dos MRS e BANHT, visto que a água produzida não possuía características favoráveis ao desenvolvimento dos microrganismos. Assim, não foi verificado crescimento microbiano no ponto P4. Portanto, a Tabela III.2 do Apêndice III infere apenas a correlação entre os parâmetros físico-químicos.

5.3.6.3 Matriz de Correlação para P8 (Tanque de água produzida em T6) – MRS e BANHT

A alta correlação positiva foi observada entre o método tradicional (frascos 28 dias) e o método de microplacas de 96 poços (7^o dia) ($r_s=0,912$ - MRS e $r_s=0,943$ - BANHT) para MRS e BANHT, conforme já explicado no item 5.4.1. Adicionalmente, a faixa de pH entre 6 e 9 é propícia para o desenvolvimento dos MRS, portanto, à medida que a dureza aumenta, há uma tendência no aumento dos microrganismos redutores de sulfato, por isso, houve uma correlação positiva entre a dureza e o crescimento microbiano pelo método tradicional para BANHT. Além disso, o aumento dos íons sulfato no meio propicia um maior crescimento dos MRS, portanto, observa-se uma correlação positiva ($r_s= 0,829$) entre o aumento do sulfato no meio e o crescimento das BANHT pelo método de microplacas de 96 poços.

5.3.6.4 Matriz de correlação P9 (Tanque de água produzida em T4) – MRS e BANHT

A correlação positiva foi observada entre o método tradicional (frascos 28 dias) e o método de microplacas de 96 poços (7^o dia) ($r_s= 0,814$ -MRS e $r_s=0,928$ - BANHT),

para MRS e BANHT, conforme justificado no item 5.4.1. Em contrapartida, nota-se uma correlação negativa entre a alcalinidade e o crescimento de MRS pelo método tradicional ($r_s=-0,812$), e entre a amônia e o crescimento dos MRS pelo método tradicional ($r_s=-0,986$), conforme também fundamentado no item 5.4.1.

Obteve-se uma correlação positiva para MRS e BANHT entre os STV e o sulfato ($r_s=0,886$), porque o maior valor de sulfato no meio permite o aumento do crescimento microbiano, com maior geração de substâncias voláteis. Uma forte correlação positiva também foi observada para BANHT entre os parâmetros sulfato e as análises microbiológicas pelos métodos tradicional ($r_s=0,829$) e método de microplacas de 96 poços ($r_s=0,899$), pois quanto maior o crescimento dos MRS (grupo incluso em BANHT), maior será a geração de sulfato.

O aumento da condutividade do eletrólito propicia o maior crescimento microbiológico dos MRS, conseqüentemente, maior será o consumo dos sólidos suspensos totais existentes no meio para o seu desenvolvimento metabólico, por isso, obteve-se uma forte correlação negativa ($r_s=-0,886$) entre a condutividade e os SST para MRS.

6. CONCLUSÕES

- O desenvolvimento de um novo método de contagem de NMP de MRS/mL e NMP de BANHT/mL demonstrou uma vantagem significativa do tempo de processamento inferior da análise (7 dias) na obtenção do diagnóstico rápido em comparação com o método tradicional (28 dias).
- A nova metodologia pesquisada possivelmente poderá ser empregada na indústria de petróleo e gás com a finalidade de contribuir para o monitoramento da corrosão influenciada microbiologicamente (CIM), promover a economia de espaço e redução de custos na análise e controle dos microrganismos, assim como evitar prejuízos sócio-econômico-ambientais.
- Os resultados demonstraram a importância do íon sulfato em relação às outras variáveis físico-químicas no que tange à sua influência no crescimento de MRS e BANHT, pois o ponto P4 (gasoduto) apresentou altos valores de DQO e baixos valores de sulfato, portanto, não houve crescimento de MRS, enquanto P2, P8 e P9 tiveram crescimento com maiores valores de sulfato na água produzida. Cabe ressaltar que a relação DQO/DBO em P2 (aqueduto), P8 (tanque de água produzida) e P9 (tanque de água produzida) contribuiu para o crescimento microbiano nestes locais. A toxicidade da água produzida observada principalmente no ponto P4 possivelmente causou inibição dos microrganismos.

7. RECOMENDAÇÕES

- Desenvolver o novo método proposto na forma de um kit comercial a fim de tornar o diagnóstico mais rápido, prático e acessível aos laboratórios da indústria do petróleo e gás.
- Aplicar a nova metodologia na indústria do petróleo com o intuito de obter o resultado mais rápido, possibilitando construir um banco de dados sobre o local monitorado e atuar de forma preventiva e/ou corretiva na redução dos possíveis impactos decorrentes da bicorrosão.

- Aperfeiçoar a aplicação da nova metodologia de detecção para Bactérias Anaeróbias Heterotróficas Totais (BANHT) a partir de maior investigação científica, para eliminar os problemas relacionados à dificuldade na visualização da turvação dos poços nas microplacas, em função do meio de cultura não ser seletivo para o crescimento destes microrganismos.
- Realizar pesquisas que associem o nível de corrosão (leve, médio ou alto) ao número de bactérias encontradas nos diversos ambientes para que o diagnóstico seja mais preciso e demonstre a real criticidade da biocorrosão presente nos sistemas de petróleo e gás.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, M.A.N de; SÉRVULO, E.F.C.; FRANÇA, F.P. de. Monitoramento da formação de biofilme em torre de refrigeração. In: 6ª Conferência sobre Tecnologia de Equipamentos. 2002. **Anais eletrônicos...** Disponível em: <<http://www.aaende.org.ar/sitio/biblioteca/material/pdf/cote037.pdf>>. Acesso em 29/09/2011.

ALVAREZ, R. V. et al. Colonization of Supports by Methanogenic and Sulfate Reducing Bacteria in Anaerobic Filter-Type Reactors. **Revista Latinoamericana de Microbiologia**. v. 42, p.177-180, 2000.

ANDRADE, V.T. de. **Avaliação da Toxicidade de água produzida tratada por processo evaporativo com a finalidade de reúso em solo**. Tese (doutorado). Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ)/COPPE. Rio de Janeiro, 2009. 144p.

APHA - American Public Health Association; American Water Work Association – AWWA; Water Pollution Control Federation – WPCF. 2005. **Standar Methods of the Experiments of Water and Wasterwater**. 21 ed. New York, 1268p.

BARBOSA, L.C. **Captura de CO₂ e H₂S com soluções aquosas de alcanolaminas via destilação reativa**. Tese (doutorado)- Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ). Rio de Janeiro, 2010. 290p. Disponível em: <[http://www.eq.ufrj.br/sipeq/download/captura-de-CO₂-e-H₂S-com-solucoes-aquosas.pdf](http://www.eq.ufrj.br/sipeq/download/captura-de-CO2-e-H2S-com-solucoes-aquosas.pdf)>. Acesso: 01/11/11.

BARTON, L.L.; HAMILTON, W.A. **Sulphate-reducing bacteria. Environmental and Engineered Systems**. Cambridge University Press, 2007.

BARTON, L.L.; TOMEI, F.A. Characteristics and activities of sulfate-reducing bacteria. In: **Sulphate-reducing bacteria**. Biotechnology Handbooks, v.8, New York, Plenum Express, 1995.

BENKA-COKER, M. O. et al. Abundance of Sulphate-Reducing Bacteria in Niger Delta Oilfield Waters. **Bioresource Technology**. v. 54, p. 151-154, 1995.

BERGEL, M., TIerno, I., **Sweetening Technologies – A look at the whole picture. Petrotech**. 2009.

BLICQ, D. **Biofilms**. 2008. Disponível em <<http://xnet.rrc.mb.ca/davidb/biofilms.htm>>. Acesso em: 29 set. 2011.

BRAGA R. M. **Uso de argilominerais e diatomita como adsorvente de fenóis em águas produzidas na indústria do petróleo**. Dissertação de mestrado - Programa de Pós-graduação em Ciência e Engenharia de Petróleo. Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Centro de Tecnologia. Centro de Ciências Exatas e da Terra. Natal-RN, 2008.

BRASIL. Agência Nacional do Petróleo – ANP. Portaria Conjunta ANP / MME número 1 de 19/06/2000. Aprova o Regulamento Técnico de Medição de Petróleo e Gás Natural, que estabelece as condições e requisitos mínimos para os sistemas de medição de petróleo e gás natural. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, 20 jun. 2000. Disponível em:< <http://nxt.anp.gov.br/NXT/gateway.dll?f=templates&fn=default.htm&vid=anp:10.1048/enu>>. Acesso em: 29 set. 2011.

BUCHER, F. **Biodeterioração de misturas de diesel e biodiesel e seu controle com biocidas**. Dissertação (mestrado). Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Instituto de Ciências Básicas da Saúde. Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola e do Ambiente. Porto Alegre, BR-RS, 2009.

CAMPOS, J.C.; NOBREGA, R.; SANT'ANNA Jr. G.L. Tratamento de água de produção de petróleo em reator biológico do tipo "Air-Lift". In: 21º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental. 2001. **Anais eletrônicos...** Disponível em:< <http://www.bvsde.paho.org/bvsaidis/aresidua/brasil/ii-001.pdf>>. Acesso em 29/09/2011

CARVALHO, C.M.; MEDEIROS, S.R.B. de; LIMA, L.F.A.; BLAHA, C.A.G. Detecção de procariotos redutores de sulfato (PRS) em amostras ambientais do manguezal de Diogo Lopes, Bacia Petrolífera Potiguar. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISA E DESENVOLVIMENTO EM PETRÓLEO E GÁS. 2007. **Anais eletrônicos...** Disponível em:< http://www.portalabpg.org.br/PDPetro/4/resumos/4PDPETRO_6_2_0419-1.pdf>. Acesso em 04 nov. 2010.

CAVALCANTI, E.H.S.; VILLELA, T.S.; SILVA, J.M.; PIMENTA, J.S.; COBUCCI, J.C.; FERREIRA, P.A. **Internal corrosion monitoring in natural gas pipelines**. 17th World Petroleum Congress, September 1 - 5, 2002 , Rio de Janeiro, Brazil.

CERQUEIRA, A.A.; MARQUES, M.R. da C. Avaliação do processo eletrolítico em corrente alternada no tratamento de água de produção. **Revista Quim. Nova**, Vol. 34, Nº. 1, 59-63, 2011.

CHEMETRICS. **Oxigênio dissolvido**. Disponível em:< <http://www.chemetrics.com.br/index.php/oxigenio-dissolvido-ta>>. Acesso em: 01 nov. 2011.

CHILINGAR, G.V.; MOURHATCH, R.; AL-QAHTANI, G.D. **The fundamentals of Corrosion and Scaling for Petroleum and Environmental Engineers**. Houston, Texas. 276p. 2008.

CHOI, S.; CHASE JR. T.; BARTHA, R. **Metabolic Pathways Leading to Mercury Methylation in Desulfovibrio desulfuricans LS**. Applied and environmental microbiology, Nov. 1994, p. 4072-4077 Vol. 60, Nº. 11.

COETSER, S.E.; CLOETE, T.E. **Biofouling and Biocorrosion in Industrial Water Systems**. Critical Reviews in Microbiology, 31: 213-232, 2005.

COCHRAN, W. G. Estimation of Bacterial densities by means of the "Most Probable Number". **Biometric**. P. 105-117, 1950.

COSTA E. C. M., AMORIM G. S., MACHADO J. P. **Reutilização do efluente do processamento primário de petróleo**. Trabalho Final de Curso - Curso de Especialização em Engenharia de Processamento de Petróleo. Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UNIVERSIDADE PETROBRAS). Rio de Janeiro-RJ, 2006.

CRAVO-LAUREAU, C. et al. Growth and cellular fatty-acid composition of a sulphate-reducing bacterium, *Desulfatibacillum aliphaticivorans* strain CV2803T, grown on n-alkenes. **C. R. Biologies**. 2004.

CURBELO F. D. S. **Estudo da remoção de óleo em águas produzidas na indústria de petróleo, por adsorção em coluna utilizando a vermiculita expandida e hidrofobizada**. Dissertação de mestrado - Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química. Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Centro de Tecnologia. Departamento de Engenharia Química. Natal-RN, 2002.

CUSTÓDIO, E.; LLAMAS, M.R. **Hidrologia Subterrânea**. 2ed. Barcelona: Ed. Omega, 2.v.,1983.

DAVIDOVA, I. et al. The influence of nitrate on microbial processes in oil industry production waters. **J Ind Microbial Biotechnol** 27: 80-86,2001.

De BRUYN, E. 1992. **Microbial ecology of sulphide-producing bacteria in water cooling systems**. PhD Thesis. University of Pretoria. South África.

DECKER, R.F. **Biotechnology/Materials: The Growing Interface**. Metallurgical Transactions A. Volume 17A, jan. 1986.

DILLING, W.; CYPIONKA, H. **Aerobic respiration in sulfate-reducing bacteria**. FEMS Microbiology Letters. v. 71, p. 123-128, 1990.

DINNING, A. J.; OLIPHANT, D.; VIK, E. A.; BRUAS, L. Initial souring monitoring and souring-mitigation testing using an online souring-mitigation cabinet (SMC) prior to live produced water reinjection (PWRI) and nitrate-based souring-mitigation treatment on Norske Shell's Draugen Platform. In: SPE INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON OILFIELD CHEMISTRY, 2005, Houston. **Proceedings**...Richardson: Society of Petroleum Engineers,2005. paper SPE 93281.

DUNSMORE, B; EVANS, P. **Produced water re-injection and its impact on reservoir souring**. 2005. Trabalho apresentado ao Produced Water Club/Nel Meeting, Aberdeen, Reino Unido, 2005. Disponível em: <www.oilplus.co.uk/company/techpapers.htm>. Acesso em: 01 out. 2011.

ECKFORD, R. E.; FEDORAK, P.M. Planktonic nitrate-reducing bacteria and sulfate-reducing bacteria in some western Canadian oil field waters. **Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology**. v. 29, p. 83-92, 2002.

EDEN, B. et al. Oilfield Reservoir Souring. **Health and Safety Executive - Offshore Technology Report**. HSE BOOKS, 1993.

Environmental Protection Agency – EPA. **Toxicological Review of Hydrogen Sulfide**. EPA-CASRN 7783-06-4. jun. 2003. Disponível em: <<http://www.epa.gov/IRIS/toxreviews/0061tr.pdf>>. Acesso em 01 out.2011.

FAUQUHAR, G. B. Review and update of technology related to formation *souring*. In: CORROSION 1997, New Orleans. **Proceedings**....Houston: NACE International, 1997.

FDA. FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. Bacteriological analytical manual Appendix 2: **Most Probable Number from Serial Dilutions**. 8 ed. Association of Official Analytical Chemists Internacional, USA, 2010. Disponível em: <<http://www.fda.gov/Food/ScienceResearch/LaboratoryMethods/BacteriologicalAnalyticalManualBAM/ucm109656.htm>>. Acesso em: 01 de maio de 2011.

FEIO, M. J. et al. Isolation and Characterisation of a Novel Sulphate-reducing Bacterium of the Desulfovibrio Genus. **Anaerobe**. v. 4, p. 117-130, 1998.

FIORESE, E.K. **Estudo experimental e de modelagem da fluidodinâmica de sistemas água/óleo**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal de Santa Catarina- UFSC, Santa Catarina, 2004.

FORD, T.; MITCHELL, R. **The ecology of microbial corrosion**. Advances in Microbial Ecol. 11, 231–262, 1990.

FRANÇA, F. **Um pólo nacional de pesquisa sobre os biofilmes**. Revista França Flash, nº 45. 2006. Disponível em: < <http://www.cendotec.org.br/francaflash/ff45.pdf>>. Acesso em: 03 nov. 2010.

FRANÇA, F.P. de; CRAVO, W.B. Jr. **Variation in sessile microflora as function of flow velocity on coupons exposed to seawater**. World Journal of Microbiology & Biotechnology 16, 811 – 814, 2000.

FUNG, D. Y. C.; KRAFT, A. A. Microtiter method for the evaluation of viable cells in bacterial cultures. **J. Appl. Microbiol**. v. 16, p. 1036-1039, 1968.

GABARDO, I.T. **Caracterização química e toxicológica da água produzida descartada em plataformas de óleo e gás na costa brasileira e seu comportamento dispersivo no mar**. Tese (Doutorado)- Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN). Natal, 2007. 261p. Disponível em: < http://btdtd.bczm.ufrn.br/tesesimplificado//tde_busca/arquivo.php?codArquivo=1202>. Acesso: 01 out. 2010.

GALVÃO, M. M. **Efeito do potencial de proteção catódica na corrosão microbiologicamente induzida**. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) – Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ, Escola de Química – EQ, 2008.

GANA, M.L.; KEBBOUCHE-GANA, S.; TOUZI, A.; ZORGANI, M.A.; PAUSS, A.; LOUNICI, H.; MAMERI, N. **Antagonistic activity of *Bacillus* sp. obtained from an Algerian oilfield and chemical biocide THPS against sulfate-reducing bacteria consortium inducing corrosion in the oil industry.** J Ind Microbiol Biotechnol, Paper original, 20 set. 2010.

GARCIA-DE-LOMAS, J.; CORZO, A.; PORTILLO, M. C.; GONZALEZ, J. M.; ANDRADES, J. A., SAIZ-JIMENEZ, C.; GARCIA-ROBLEDO, E. Nitrate stimulation of indigenous nitrate-reducing, sulfide-oxidising bacterial community in wastewater anaerobic biofilms. **Water Research**, v. 41, p. 3121 – 3131, 2007.

GARDNER, L. R.; STEWART, P. S. Action of glutaraldehyde and nitrite against sulfatereducing bacterial biofilms. **Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology**, v. 29, p.354-360, 2002.

GAYLARDE, C.C.; BENTO, F.M.; KELLEY, J. **Microbial contamination of stored hydrocarbon fuels and its control.** Rev. Microbiol., vol.30, n.1, São Paulo 1999.

GAYLARDE, C.; COOK, P. **New Rapid Methods for the Identification of Sulphate-Reducing Bactéria.** International Biodeterioration. v. 26, p. 337-345, 1990.

GENTIL, V. **Corrosão.** Livros Técnicos e Científicos. Editora S.A., 4ª edição, 2003.

GIBERT et al. Treatment of acid mine drainage by sulphate-reducing bacteria using permeable reactive barriers: **A review from laboratory to full-scale experiments.** Reviews in Environmental Science & Bio/Technology. v. 1, p. 327-333, 2002.

GIBSON, G. R. et al. **Evaluation of viable counting procedures for the enumeration of sulfate-reducing bacteria in estuarine sediments.** Journal of Microbiological Methods v. 7, p. 201-210, 1987.

GOMES, E. A. **Tratamento combinado da água produzida de petróleo por eletroflotação e processo fenton.** Dissertação (Mestrado em Engenharia de Processos). Universidade Tiradentes, 2009. 95p.

GONÇALVES, R.V.; ROCHA, S.M.S.; CARDOSO, V.L. **Efeito da adição intermitente de nitrato na biogênese de H₂S.** In: VIII Congresso Brasileiro de Engenharia Química em Iniciação Científica. Uberlândia, Minas Gerais. 27 a 30 de julho de 2009. Disponível em:< www.cobeqic2009.feq.ufu.br/uploads/media/96722771.pdf>. Acesso em 29 set. 2011.

HAMILTON, W.A. **Sulphate-reducing bacteria and anaerobic corrosion.** Annual Rev. Microbiol. 39:195–969, 1985.

HAMILTON, W. A. Bioenergetics of sulphate-reducing bacteria in relation to their environmental impact. **Biodegradation.** v. 9, p. 201-212, 1998.

HENDERSON, S.B.; GRIGSON, S.J.W.; JONHSON, P. RODDIE, B.D. **Potencial Impact of Production Chemicals on the Toxicity of Produced Water Discharges**

from North Sea Oil Platforms. Marine Pollution Bulletin, v.38, n.12, p.1141-1151, 1999.

JACK, T. R. **Biological Corrosion Failures.** NOVA Chemicals Ltd., 2002.

JAIN, D. K. Evaluation of the semisolid Postgate's B medium for enumerating sulfate-reducing bacteria. **Journal of Microbiological Methods.** v. 22, p. 27-38, 1995.

JAN-ROBLERO, J.; ROMERO, J.M.; AMAYA, M.; BORGNE, S.Le. **Phylogenetic characterization of a corrosive consortium isolated from a sour gas pipeline.** Appl Microbiol Biotechnol 64: 862–867, 2004.

JORDAN, L. C.; WALSH, J. M. Selection of an active souring management solution for a Gulf of Mexico waterflood. In: CORROSION 2004, New Orleans. **Proceedings....**Houston: NACE International, 2004. paper 04759.

JOUBERT, T. **Tratamento de água de resfriamento.** Curso on-line: tratamento de água. Araraquara – SP, 2004. Disponível em:< http://www.snatural.com.br/PDF_arquivos/Torre-Caldeira-Tratamento-Agua.pdf>. Acesso em 20 nov. 2011.

KHATIB, Z. I.; SALANITRO, J. P. Reservoir souring: analysis of surveys and experience in sour waterfloods. In: SPE INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON OILFIELD CHEMISTRY, 1997, San Antonio. **Proceedings...**Richardson: Society of Petroleum Engineers, 1997. paper SPE 38795.

KLEIKEMPER, J. et al. Activity and Diversity of Sulfate-Reducing Bacteria in a Petroleum Hydrocarbon-Contaminated Aquifer. **Applied and Environmental Microbiology.** v. 68, n. 4, p. 1516-1523, 2002.

LABAS, M. D.; MARTÍN, C. A.; CASSANO, A. E.. Kinetics of bacteria disinfection with UV radiation in an absorbing and nutritious medium. **Chemical Engineering Journal,** v.114, p. 87-97, 2005.

LARSEN, J. SANDERS, P. F.; TALBOT, R. E. Experience with the use of tetrakis(hydroxymethyl)phosphonium sulfate (THPS) for the control of downhole hydrogen sulfide. In: CORROSION 2000, San Diego. **Proceedings....**Houston: NACE International, 2004. paper 00123.

LEE, W.; LEWANDOWSKI, Z.; NIELSEN, P.H.; HAMILTON, W.A. **Role of sulfate-reducing bacteria in corrosion of mild steel:** A review. Biofouling 8, 165–194, 1995.

LEITE, J.C.A.; VILAR, E.O.; CAVALCANTI, E.B.; FILHO, I de O. S. Aplicação da eletroflotação para remoção de óleo emulsionado em águas de produção de campos de petróleo. In: 4º PDPETRO, 2007, Campinas, SP. **Anais eletrônicos...** Disponível em:<http://www.portalabpg.org.br/PDPetro/4/resumos/4PDPETRO_6_2_01961.pdf>. Acesso em: 29 set. 2011.

LIMA, W.B.; GONÇALVES, R. F.; CASSINI, S. T. A. Desenvolvimento de sistema de detecção de bactérias redutoras de sulfato (brs) para controle de biocorrosão. In: 23º

Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental. 2005. **Anais eletrônicos...** Disponível em:< <http://www.bvsde.paho.org/bvsacd/abes23/X006.pdf>>. Acesso em 29 set. 2011.

LIMA, W.B. **Avaliação de metodologia para enumeração de bactérias redutoras de sulfato (BRS) em amostras ambientais utilizando microplacas de 96 poços.** Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) – Universidade Federal do Espírito Santo – UFES, Centro Tecnológico, 2006.

MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J. M.; PARKER, J. **Microbiologia de Brock.** Tradução de Cynthia Maria Kiaw. 10. ed. São Paulo: Prentice Hall, 2004. 608 p.

MAGOT, M.; OLLIVIER, B.; PATEL, B.K.C. Microbiology of petroleum reservoirs. **Antonie van Leeuwenhoek**, 77:103-116, 2000.

MARQUES, L. C. C.; SOARES, S. H. G. **Bactérias Redutoras de Sulfato** – O que há de novo no front?. I Encontro de Engenharia de Poços da UN-BC, Macaé, Junho 2002.

MATIAS, P.M.; PEREIRA, I.A.C.; SOARES, C.M.; CARRONDO, M.A. Sulphate respiration from hydrogen in *Desulfovibrio* bacteria: a structural biology overview. **Progress in Biophysics and Molecular Biology**, v.89, p. 292-329, 2005.

MAYER, P.C. **Uso do coeficiente de variação e do desvio padrão.** Faculdade de Administração – FABE. Marau – RS. Disponível em:< http://www.fabemarau.edu.br/upload/cursositensarquivos/10/arquivo_35.pdf>. Acesso em: 20 nov. 2011.

McKENZIE, J.; HAMILTON, W. A. The Assay of in-situ Activities of Sulphate-Reducing Bacteria in a Laboratory Marine Corrosion Model. **International Biodeterioration & Biodegradation**. v. 29, p. 285-297, 1992.

MERCK. Teste de Ferro. Disponível em:<http://www.merck-chemicals.com/is-bin/INTERSHOP.enfinity/WFS/MerckBRSite/pt_BR//EUR/ViewPDFPrint.pdf?RenderPageType=ProductDetail&CatalogCategoryID=MSqb.s1L_zlIAAAEWmelfVhTI&ProductUUID=osyb.s1OXgEAAAEasr9qKZLk&PortalCatalogUUID=t02b.s1LX0MAAAEWc9UfVhTI>. Acesso em 25 jun. 2011.

MILLER, T. L; WOLIN, M. J. A Serum Bottle Modification of the Hungate Technique for Cultivating Obligate Anaerobes. **Applied Microbiology**. p. 985-987, 1974. na metodologia.

MORI, K.; KIM, H.; KAKEGAWA, T.; HANADA, S. A novel lineage of sulfate-reducing microorganisms: Thermodesulfobiaceae fam. nov., Thermodesulfobium narugense, gen. nov., sp. nov., a new thermophilic isolate from a hot spring. **Springer-Verlag**, v.7, p. 283-290, 2003.

MOTA, K. de A. **Microscopia de biofilmes em substrato metálico formado em sistemas estáticos e dinâmico na presença de fluido oleoso.** Dissertação

(mestrado) – Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, Departamento de Materiais. 2009.

NEVIUS, B. A.; BAGWELL, C. E.; BRIGMON, R. L. 2004. **Characterization of microbial communities in TCE-contaminated seep zone sediments**. Journal of the South Carolina Academy of Science Journal of the South Carolina Academy of Science, 2(1): 25-29. <http://sti.srs.gov/fulltext/ms2005107/ms2005107.pdf>. Acesso em dezembro de 2005.

OGP. Aromatics in produced water: occurrence, fate & effects, and treatment. Report I.20/324. January, 24p. 2002.

OLDOM, J.M.; PECK, H. D. Bioenergetics of *Desulfovibrio*. **Ann. Rev. Microbiol.** v. 38, p. 551-592, 1984.

OLIVEIRA, A.M.P. **Alcalinidade de dureza das águas**. 2007. Disponível em:< http://www.kurita.com.br/adm/download/Alcalinidade_e_Dureza.pdf>. Acesso em: 25 nov. 2011.

OLIVEIRA, R.C.G.; OLIVEIRA, M.C.K. Remoção de contaminantes tóxicos dos efluentes líquidos oriundos da atividade de produção de petróleo no mar. **Bol. téc. PETROBRAS**, Rio de Janeiro, 43 (2): 129-136, 2000.

OLIVEIRA, R. P. S. **Condições microbiológicas e avaliação da pasteurização em amostras de leite comercializadas no município de Piracicaba-SP**. Dissertação de Mestrado. Escola Superior de Agricultura, Piracicaba, 2005.

PADILHA-VIVEROS, A.; GARCIA-OCHOA, E.; ALAZAR, D. **Comparative electrochemical noise study of the corrosion process of carbon steel by the sulfate-reducing bacterium *Desulfovibrio alaskensis* under nutritionally rich and oligotrophic culture conditions**. Electrochimica Acta 51: 3841–3847, 2006.

PARENTE, P.F. **Avaliação das condições de biodegradação do petróleo a partir da caracterização de parâmetros físico-químicos das águas e óleos da formação Açú na Bacia Potiguar**. Dissertação de mestrado. Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ. Rio de Janeiro, 2006.

PAULINO, L.C.; NETO, V.C. R.; FERNANDES, H.; NETO, A. A.D.; DANTAS, T.N. de C.; NETO, E.L. de B. Avaliação da recuperação avançada de petróleo com sistemas microemulsionados. In: 4º PDPETRO, 2007, Campinas, SP. **Anais eletrônicos...** Disponível em:< http://www.portalabpg.org.br/PDPetro/4/resumos/4PDPETRO_2_1_0281-1.pdf>. Acesso em: 29/09/2011.

PENNA, M. O. et al. Sistema dinâmico para avaliação de técnicas de monitoração e controle da CIM. **Bol. téc. PETROBRAS**. v. 45, n. 1, p. 26-33, Rio de Janeiro, jan/mar, 2002.

PENNA, M. O.; OLIVEIRA, H. B.; SILVA, E. D. Avaliação da atividade metabólica (produção de H₂S) de culturas mistas de bactérias redutoras de sulfato (BRS). **Boletim Técnico da Petrobras**, v. 46, n. 3-4. p. 208 – 219, Jul/Dez. 2003.

PETROBRAS. **Relatório Técnico da Monitoração da Corrosão Interna do Gasoduto 6" UTGC/LP**. 2008.

PETROBRAS. **Sistema de Gerenciamento da Integridade Estrutural** – Descrição da Unidade Terrestre (DUT). 2011.

PONTES, A.C.F.; PONTES, Jr. A.C.F.; BRAGA, A. da S. **Ensino da correlação de postos no ensino Médio**. 19º SINAPE - Simpósio Nacional de Probabilidade e Estatística - SINAPE. 26-30 julho de 2010. Hotel Fazenda Fonte Colina Verde, São Pedro – SP. Disponível em:<<http://www.ime.unicamp.br/sinape/19sinape/home>>. Acesso em: 25 nov. 2011.

POSTGATE, J. R. – **The sulphate-reducing bacteria** – Cambridge: University Press, 1979.

_____, J.R. **The sulphate-reducing bacteria** – Cambridge: University Press, 1984.

RABUS, R. et al. Dissimilatory Sulfate- and Sulfur-Reducing Prokaryotes. in M. Dworkin et al., eds., *The Prokaryotes: An Evolving Electronic Resource for the Microbiological Community*, 3rd edition, Release 3.3, August 9, 2000, Springer-Verlag, New York, **Anais eletrônicos...** Disponível em<<http://141.150.157.117:8080/prokPUB/chaprender/jsp/showchap.jsp?chapnum=274>> Acesso em 29 set. 2011.

RAWLINGS, D.E. **Heavy metal mining using microbes**. Annual Rev. Microbiol. v. 56, p.65-91, 2002.

ROBERTSON, L.A.; KUENEN, J.G. **The colorless sulphur bacteria**. In: M. Dworkin, S. Falkow, E. Rosenberg, K.H. Schleifer, E. Stackebrandt (Eds.), *The Prokaryotes*, vol. 2, 3rd ed., Springer, New York, 2006, p. 985–1011.

ROCHA, S.M.S. **Avaliação da utilização de nitrato por cultura mista enriquecida com bactérias redutoras de sulfato (BRS) em efluente contendo sulfato**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal de Uberlândia - UFU, 2006.

SANT'ANNA, G. de S. **Monitoramento microbiológico e físico-químico de tanques de armazenamento de óleo e água Rio de Janeiro**. Dissertação (Mestrado em Engenharia química) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro – UERJ, 2009.

SANTOS, A. C. dos; CRUZ, S.M. da; SOLETTI, J.I.; CARVALHO, S.H. de; TONHOLO, J.; ZANTA, C.L.P.S.; MIRAPALHETA, A. Tratamento de efluentes sintéticos da indústria de petróleo utilizando o método da eletroflotação. In: 4º PDPETRO, 2007, Campinas, SP. **Anais eletrônicos...** Disponível em:<http://www.portalabpg.org.br/PDPetro/4/resumos/4PDPETRO_6_2_03682.pdf>. Acesso em: 29 set. 2011.

SANTOS, E.T. dos. Estudo da formação de biofilmes em material compósito. In: XIX Seminário de Iniciação Científica da PUC. Rio de Janeiro, 23-26 agosto 2011. **Anais eletrônicos...** Disponível em:< http://www.puc-rio.br/pibic/relatorio_resumo2011/Resumos/CTC/DCMM/DCMMEllen%20Trindade%20dos%20Santos.pdf>. Acesso em 29 set. 2011.

SCOTTO, V.; MOLLICA, A. A guide to laboratory techniques for the assesment of MIC risk due to the presence of biofilms. In: FLEMMING, Hans Curt (Org.). **Simple Methods for the investigation of the role of biofilms in corrosion**. September, 2000. p.15-27.

SEGUI, P.N. **Bioatenuação da geração de sulfeto, por meio da utilização de nitrato, em água produzida proveniente da extração de petróleo**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) – Universidade Federal do Espírito Santo – UFES, Centro Tecnológico, 2009.

SILVA, C. R. R. **AP na Extração do Petróleo**. Monografia – Curso de Especialização em Gerenciamento e Tecnologias Ambientais na Indústria. Departamento de Hidráulica e Saneamento, Escola Politécnica – BA, 2000.

SOUZA, R.E.A. **Corrosão de liga memória de forma de Cu-Al-Ni em fluido produzido de campo terrestre de petróleo**. Dissertação de mestrado. Universidade Tiradentes, Aracaju, Sergipe, 2007.

SOUZA, K. A. de. **Avaliação da biogênese de sulfeto sob diferentes concentrações de bactérias redutoras de nitrato, bactérias redutoras de sulfato e nitrato**. Tese (Doutorado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Escola de Química, Rio de Janeiro, 2009.

SOUZA, K. A. De; CAMMAROTA, M.C.; SÉRVULO, E.F.C. **Efeito da aplicação de nitrato na redução biogênica de sulfeto sob diferentes concentrações iniciais de bactérias redutoras de nitrato e sulfato**. Quim. Nova, Vol. 33, No. 2, 273-278, 2010. Disponível em:< <http://www.scielo.br/pdf/qn/v33n2/08.pdf>>. Acesso em 09 out. 2011.

STAMBAUGH, B. Scientist J. William Costerton To Speak On 'Battling Biofilms' At Denison Lecture. 2003. In: **Denison University**. Disponível em:< <http://www.denison.edu/offices/publicaffairs/pressreleases/costerton.html>>. Acesso em: 03 out. 2011.

STEPHENSON, M.T. **Components of Produced Water: A Compilation of Results from Several Industry Studies**. SPE, n.23313, p.25-38, 1991.

SUBTIL, E. L. **Avaliação da redução de sulfato e produção de sulfeto dissolvido em reator anaeróbio de manta de lodo (UASB) tratando esgoto sanitário em escala real**. Dissertação de mestrado. Universidade Federal do Espírito Santo, 2007.

SUNGUR, E. I.; COTUK, A. Characterization of sulfate reducing bacteria isolated from cooling towers. **Environmental Monitoring and Assessment**. p.1-9, 2004.

TANG, K.; BASKARAN, V.; NEMATI, M. **Bacteria of the sulphur cycle**: An overview of microbiology, biokinetics and their role in petroleum and mining industries. *Biochemical Engineering Journal* 44: 73–94, 2009.

THOMAS, J.E. **Fundamentos de engenharia de petróleo**. 2 ed. Rio de Janeiro: Interciência: PETROBRAS, 271p., 2004.

TORRES, E. Da S.; FRANÇA, F.P. de. **Eficácia de pigs na remoção de biofilmes formados sobre superfícies de aço carbono AISI –1020**. 6° COTEQ Conferência sobre Tecnologia de Equipamentos. 22° CONBRASCORR – Congresso Brasileiro de Corrosão. Salvador – Bahia 19 a 21 de agosto de 2002. Disponível em:<<http://www.aaende.org.ar/sitio/biblioteca/material/PDF/COTE036.PDF>>. Acesso em 29 nov. 2011.

TOWNSEND, D.E.; NAQUI, A. Comparison of SimPlate total plate count with plate count agar method for detection and quantitation of bacteria in food. **Journal of AOAC International**, v.81, n.3, p.563-569, 1998.

USP – Universidade de São Paulo. Campo Petrolífero de Marlim. Disponível em:<<http://www.tpn.usp.br/petroleo/>>. Acesso em 20 nov. 2011.

VESTER, F.; INGVORSEN, K. Improved Most-Probable-Number Method To Detect Sulfate-Reducing Bacteria with Natural Media and a Radiotracer. **Applied and Environmental Microbiology**. v. 64, n. 5, p. 1700-1707, may. 1998.

VIDELA, H. A. **Biocorrosão, Biofouling e Biodeterioração de Materiais**. Editora, Edgard Blucher Ltda, São Paulo, 2003.

VIDELA, H.A.; HERRERA, L.K. **Microbiologically influenced corrosion: looking to the future**. *International Microbiology* 8:169-180, 2005.

VIEIRA, D.S.; CAMMAROTA, M.C.; CAMPORESE, E.F.S. Redução de contaminantes presentes na água de produção de petróleo. In: **2º Congresso Brasileiro de P&D em Petróleo e Gás**. UFRJ, Rio de Janeiro, 2003. Disponível em :<<http://www.portalabpg.org.br/PDPetro/2/6062.pdf>>. Acesso em 29 set. 2011.

von SPERLING, M. **Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos**. v. 1. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental, 1996.

_____. I-094 Coliformes e pH – Médias aritméticas, médias geométricas e medianas. In: 21º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental. 2001. **Anais eletrônicos...** Disponível em:<<http://www.bvsde.paho.org/bvsaidis/caliagua/brasil/i-094.pdf>>. Acesso em 29 set. 2011.

VOORDOUW, G. The Genus *Desulfovibrio*: The Centennial. **Applied and Environmental Microbiology**. v. 61, n. 8, p. 2813-2819, 1995.

VOORDOUW, G. Impact of nitrate on the sulfur cycle in oil fields. In. DAHL C.; FRIEDRICH, C.G. (Eds). **Microbial Sulfur Metabolism**. Springer, Berlin New York, 2008. cap 23. p. 297-302.

YAMAOKA-YANO, D.M.; VALARINI, P.J. Métodos de identificação de bactérias. In: MELO, I.S. de; AZEVEDO, J. I. de. **Ecologia Microbiana**. Embrapa-CNPMA, 1998.

ZAR, Jerold. H **Biostatistical Analysis**. 3ed. New Jersey Prentice Hall 1996. 121p.

9. APÊNDICES

Apêndice I – Estatística Descritiva dos parâmetros físico-químicos

Parâmetros	P4				P2				P8				P9			
	MA	MED	DP	CV (%)	MA	MED	DP	CV (%)	MA	MED	DP	CV (%)	MA	MED	DP	CV (%)
pH	5,60	5,52	0,43	8%	5,87	5,91	0,29	5%	6,63	6,49	0,16	2%	6,51	6,49	0,16	2%
Cond (uS/cm)	4,69	4,21	1,28	27%	5,09	5,14	0,35	7%	44,92	49,55	13,02	29%	46,39	45,98	8,46	18%
T (°C)	29,50	30,00	1,22	4%	29,83	30,00	1,60	5%	30,33	30,00	1,51	5%	33,33	33,00	1,37	4%
OD (ppb)	-	-	-	-	10,00	10,00	0,00	-	100,00	100,00	0,00	0%	43,33	40,00	15,06	35%
Turbidez (UNT)	301,97	183,42	341,00	113%	283,84	100,98	385,35	136%	54,51	51,60	27,74	51%	75,48	55,93	51,25	68%
SST(mg/L)	0,10	0,03	0,17	-	0,16	0,08	0,20	-	0,38	0,36	0,11	28%	0,26	0,27	0,14	54%
ST(mg/L)	3,85	3,94	1,09	28%	20,90	3,71	41,57	199%	118,35	119,44	7,90	7%	93,47	83,46	42,34	45%
SSV(mg/L)	0,06	0,02	0,11	-	0,05	0,02	0,09	-	0,34	0,32	0,11	33%	0,14	0,13	0,12	-
STV (mg/L)	3,01	2,84	0,99	33%	19,02	3,36	38,16	201%	98,23	100,18	6,77	7%	68,08	62,49	42,77	63%
DBO ₅ (mg/L)	-	-	-	-	1558	1558	675	43%	1153	1200	188	16%	2114	2003	482	23%
DQO (mg/L)	3631	2349	3645	100%	11536	7914	6523	57%	4214	2932	2411	57%	3563	3985	1277	36%
DQO/DBO	-	-	-	-	7,41	-	-	-	3,65	-	-	-	1,69	-	-	-
DBO/DQO	-	-	-	-	0,14	-	-	-	0,27	-	-	-	0,59	-	-	-
Sulfato (mg/L)	10,31	10,34	5,68	55%	71,61	17,05	27,02	38%	67,05	42,33	17,51	26%	44,59	42,33	17,51	39%
Sulfeto (mg/L)	2,65	2,45	1,04	39%	5,47	5,83	0,77	14%	8,04	7,67	1,75	22%	10,26	9,70	2,43	24%
Óleos e Graxas (mg/L)	136,52	24,73	265,86	195%	25,00	15,50	24,82	99%	247,17	170,50	193,89	78%	117,19	69,09	173,55	148%
NH ₃ (mg/L)	27,45	28,21	13,61	50%	32,08	34,64	15,69	49%	162,75	150,58	74,35	46%	59,60	59,09	41,86	70%
Dureza (mg/L)	0,00	0,00	0,00	-	0,00	0,00	0,00	-	297,42	312,63	91,37	-	673,98	744,15	307,66	-
Salinidade(mg/L)	1424,56	2389,61	779	55%	2262,01	2433,62	505	22%	64500,83	66479,39	9910	15%	87757,18	93009,45	24559	28%
Alcalinidade(mg CaCO ₃ /L)	226,13	193,85	170,26	75%	330,55	337,82	191,55	58%	283,16	250,63	116,66	41%	222,86	174,06	146,72	66%
Fe (mg/L)	2,67	2,50	0,82	31%	2,67	2,50	0,82	31%	2,83	3,00	0,89	32%	3,00	3,00	0,89	30%

Legenda: MA – Média Aritmética; DP – Desvio Padrão; VAR – Variância; CD- Condutividade; TE – Temperatura; OD – Oxigênio Dissolvido; TUR – Turbidez; SST- Sólidos Suspensos Totais; ST- Sólidos Totais; SSV – Sólidos Suspensos Voláteis; STV- Sólidos Totais Voláteis; DBO – Demanda Bioquímica de Oxigênio; DQO – Demanda Química de Oxigênio.

Apêndice II – Resultados da análise de BRS e BANHT em todos os pontos de amostragem, através do método tradicional e método de microplacas de 96 poços (Dados Brutos)

Tabela II. 1 - Resultados da análise de BRS em todos os pontos de amostragem para o método tradicional e de microplacas de 96 poços (NMP de MRS/mL)

Campanhas	Data da Inoculação	Amostras	Método Tradicional (28 dias)	Método de Microplacas de 96 poços			
				1ª Obs. (7 dias)	2ª Obs. (14 dias)	3ª Obs. (21 dias)	4ª Obs. (28 dias)
1ª Campanha	13/mai	P1	4.62E+03	3.86E+03	2.23E+03	2.23E+03	2.23E+03
		P2	4.24E+03	8.15E+03	6.92E+03	6.92E+03	6.92E+03
		P3	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00
	26/mai	P4	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00
		P5	1.49E+02	1.64E+03	2.23E+03	3.82E+03	5.18E+03
		P6	6.35E+02	1.60E+04	1.55E+04	1.77E+04	1.77E+04
		P7	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00
		P8	1.49E+03	1.21E+03	1.21E+03	1.21E+03	1.21E+03
		P9	9.18E+02	2.15E+02	2.15E+02	9.59E+02	9.79E+02
2ª Campanha	29/jun	P1	1.10E+04	1.23E+03	1.23E+03	4.54E+02	4.54E+02
		P2	7.49E+01	1.25E+03	1.25E+03	1.25E+03	1.25E+03
		P3	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00
	05/jul	P4	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00
		P5	2.31E+04	1.64E+03	2.15E+03	3.10E+03	4.00E+03
		P6	9.04E+02	9.13E+03	5.63E+03	9.01E+03	9.84E+03
		P7	9.18E+00	2.15E+02	2.15E+02	2.15E+02	4.45E+02
		P8	2.31E+04	1.15E+04	1.15E+04	2.75E+04	1.09E+05
		P9	1.49E+02	2.15E+02	2.15E+02	2.15E+02	2.15E+02
3ª Campanha	05/ago	P1	1.10E+03	2.11E+03	3.10E+02	3.10E+02	3.10E+02
		P2	9.16E+00	0.00E+00	9.59E+02	9.59E+02	9.59E+02
		P3	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00
	12/ago	P4	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00
		P5	9.18E+02	2.15E+02	2.15E+02	2.15E+02	2.15E+02
		P6	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00
		P7	3.57E+00	2.15E+02	2.15E+02	2.15E+02	2.15E+02
		P8	2.31E+04	4.62E+03	6.02E+03	2.23E+03	1.64E+04
		P9	4.62E+02	2.15E+03	2.15E+03	5.55E+03	9.59E+03
4ª Campanha	25/ago	P1	3.57E+00	9.59E+02	9.59E+02	9.59E+02	9.59E+02
		P2	1.99E+01	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00
		P3	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00
	31/ago	P4	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00
		P5	4.26E+04	4.45E+02	4.45E+02	9.59E+02	1.90E+03
		P6	7.94E+01	1.16E+03	1.16E+03	1.16E+03	1.16E+03
		P7	3.57E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00
		P8	4.62E+02	2.15E+02	4.65E+03	2.03E+03	2.11E+03
		P9	1.49E+02	2.15E+02	2.15E+02	2.15E+02	2.15E+02
5ª Campanha	16/set	P1	3.57E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00
		P2	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00
		P3	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00
	31/ago	P4	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00
		P5	4.26E+04	4.45E+02	4.45E+02	9.59E+02	1.90E+03
		P6	2.42E+02	1.22E+03	2.52E+03	2.52E+03	2.52E+03
		P7	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00
		P8	3.60E+02	2.15E+02	2.15E+02	2.15E+02	2.15E+02
		P9	3.57E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00
6ª Campanha	18/out	P1	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00
		P2	2.10E+01	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00
		P3	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00
	19/out	P4	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00
		P5	4.26E+04	2.15E+02	7.46E+03	8.35E+03	2.58E+04
		P6	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00
		P7	2.30E+02	2.15E+03	2.15E+03	2.15E+03	2.15E+03
		P8	9.59E+02	9.59E+02	9.59E+02	9.59E+02	9.59E+02
		P9	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00

Tabela II. 2 - Resultados da análise de MRS em todos os pontos de amostragem para o método tradicional e método de microplacas de 96 poços - Dados logaritmizados (Log10 (NMP de MRS/mL + 2))

Campanhas	Data da Inoculação	Amostras	Método Tradicional (28 dias)	Método de Microplacas de 96 poços			
				1ª Obs. (7 dias)	2ª Obs. (14 dias)	3ª Obs. (21 dias)	4ª Obs. (28 dias)
1ª Campanha	13/mai	P1	3.66	3.59	3.35	3.35	3.35
		P2	3.63	3.91	3.91	3.91	3.91
		P3	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30
		P4	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30
		P5	2.17	3.21	3.35	3.58	3.71
		P6	2.80	4.20	4.20	4.26	4.26
	26/mai	P7	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30
		P8	3.17	3.05	3.05	3.05	3.05
		P9	2.96	2.33	2.33	1.98	2.92
2ª Campanha	29/jun	P1	4.04	3.09	3.45	2.64	2.64
		P2	1.87	3.10	3.10	3.10	3.10
		P3	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30
		P4	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30
		P5	4.36	3.10	3.33	3.49	3.59
		P6	2.96	3.96	3.75	3.96	3.99
	05/jul	P7	0.96	0.84	0.84	0.84	0.89
		P8	4.36	5.17	4.06	4.44	5.04
		P9	2.17	2.33	2.33	2.33	2.33
3ª Campanha	05/ago	P1	3.04	3.32	2.49	2.49	2.49
		P2	0.96	0.30	2.98	2.98	2.98
		P3	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30
		P4	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30
		P5	2.96	2.33	2.33	2.33	2.33
		P6	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30
	12/ago	P7	0.55	0.84	0.84	0.84	0.84
		P8	4.36	3.66	3.76	3.19	4.22
		P9	2.66	3.33	3.33	3.74	3.98
4ª Campanha	25/ago	P1	0.55	2.98	2.98	2.98	2.98
		P2	1.30	0.30	0.30	0.30	0.30
		P3	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30
		P4	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30
		P5	4.63	2.65	2.65	2.98	3.28
		P6	1.87	3.06	3.06	3.06	3.06
	31/ago	P7	0.55	0.30	0.30	0.30	0.30
		P8	2.66	2.33	3.67	3.31	3.32
		P9	2.17	2.33	2.33	2.33	2.33
5ª Campanha	16/set	P1	0.55	0.30	0.30	0.30	0.30
		P2	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30
		P3	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30
		P4	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30
		P5	4.44	3.33	4.40	4.32	3.33
		P6	2.38	3.09	3.40	3.40	3.40
	31/ago	P7	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30
		P8	2.56	2.33	2.33	2.33	2.33
		P9	0.55	0.30	0.30	0.30	0.30
6ª Campanha	18/out	P1	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30
		P2	1.32	0.30	0.30	0.30	0.30
		P3	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30
		P4	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30
		P5	4.63	2.33	3.87	3.91	2.33
		P6	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30
	19/out	P7	2.36	3.33	3.33	3.33	3.33
		P8	3.96	2.98	2.98	2.98	2.98
		P9	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30

Tabela II. 3 - Resultados da análise de BANHT em todos os pontos de amostragem para o método tradicional e método de microplacas de 96 poços (NMP de BANHT/mL)

Campanhas	Data da Inoculação	Amostras	Método Tradicional (28 dias)	Método de Microplacas de 96 poços			
				1ª Obs. (7 dias)	2ª Obs. (14 dias)	3ª Obs. (21 dias)	4ª Obs. (28 dias)
1ª Campanha	13/mai	P1	7.24E+04	9.59E+05	9.59E+05	9.59E+05	9.59E+05
		P2	1.43E+04	2.31E+04	2.31E+04	2.31E+04	2.31E+04
		P3	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00
		P4	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00
		P5	2.04E+03	1.25E+04	1.57E+05	1.55E+05	1.55E+05
	26/mai	P6	6.35E+04	9.83E+06	3.11E+07	3.11E+07	3.11E+07
		P7	2.30E+03	2.31E+05	2.31E+05	2.31E+05	2.31E+05
		P8	2.42E+01	4.45E+02	4.45E+01	2.15E+03	2.15E+03
		P9	1.51E+01	5.81E+02	5.81E+02	6.81E+02	6.81E+02
2ª Campanha	29/jun	P1	2.40E+02	9.59E+03	1.36E+03	1.36E+04	1.36E+04
		P2	2.31E+01	1.09E+05	1.09E+05	1.09E+05	1.09E+05
		P3	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00
		P4	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00
		P5	4.59E+04	5.19E+04	1.57E+04	1.90E+04	1.15E+05
	05/jul	P6	9.04E+04	6.98E+05	6.98E+05	6.98E+05	6.98E+05
		P7	7.40E+01	1.57E+04	1.57E+04	1.57E+04	1.57E+04
		P8	4.26E+04	8.15E+03	1.49E+05	1.49E+05	7.31E+04
		P9	3.85E+01	2.15E+02	5.55E+02	6.53E+02	7.46E+02
3ª Campanha	05/ago	P1	4.62E+02	1.04E+03	2.31E+04	4.00E+05	7.31E+05
		P2	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00
		P3	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00
		P4	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00
		P5	1.10E+03	1.90E+03	3.88E+04	6.07E+04	6.66E+04
	12/ago	P6	3.41E+06	1.71E+06	1.71E+06	1.71E+06	1.71E+06
		P7	2.40E+02	1.36E+04	1.36E+04	1.36E+04	1.36E+04
		P8	4.22E+03	8.35E+02	7.05E+03	5.81E+03	4.29E+04
		P9	1.49E+02	8.15E+03	8.15E+03	6.02E+04	2.11E+05
4ª Campanha	25/ago	P1	1.14E+01	2.15E+02	2.15E+02	2.15E+02	2.15E+02
		P2	2.36E+01	1.92E+03	2.31E+03	1.44E+03	1.44E+03
		P3	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00
		P4	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00
		P5	9.19E+03	2.31E+03	1.92E+04	6.92E+04	6.92E+04
	31/ago	P6	5.36E+00	7.33E+04	7.33E+04	1.04E+06	4.63E+00
		P7	1.10E+03	9.59E+03	9.59E+03	9.59E+03	9.59E+03
		P8	7.49E+03	3.92E+03	9.30E+03	1.40E+04	1.55E+04
		P9	9.33E+01	6.92E+02	2.07E+03	1.36E+03	1.26E+03
5ª Campanha	16/set	P1	1.47E+01	4.45E+02	3.86E+02	1.36E+03	1.36E+03
		P2	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00
		P3	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00
		P4	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00
		P5	7.40E+03	3.88E+03	2.99E+04	2.89E+04	2.15E+04
	31/ago	P6	4.19E+00	2.06E+04	8.86E+04	8.86E+04	4.20E+00
		P7	4.04E+01	9.59E+03	0.00E+00	9.59E+03	9.59E+03
		P8	4.24E+03	1.36E+03	3.10E+03	3.86E+03	5.55E+03
		P9	3.57E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00
6ª Campanha	18/out	P1	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00
		P2	2.10E+01	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00
		P3	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00
		P4	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00
		P5	1.46E+04	1.25E+03	1.40E+05	3.21E+04	1.49E+05
	19/out	P6	4.61E+02	1.16E+04	1.47E+04	1.47E+04	1.47E+04
		P7	8.19E+05	1.25E+06	1.23E+06	1.23E+06	1.23E+06
		P8	9.19E+03	2.31E+04	6.54E+05	6.54E+05	4.62E+05
		P9	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00

Tabela II. 4 - Resultados da análise de BANHT em todos os pontos de amostragem para o método tradicional e método de microplacas de 96 poços - Dados logaritmizados (Log10 (NMP de BANHT/mL + 2))

Campanhas	Data da Inoculação	Amostras	Método Tradicional (28 dias)	Método de Microplacas de 96 poços			
				1ª Obs. (7 dias)	2ª Obs. (14 dias)	3ª Obs. (21 dias)	4ª Obs. (28 dias)
1ª Campanha	13/mai	P1	4.86	5.98	5.98	5.98	5.98
		P2	4.15	4.36	4.36	4.36	4.36
		P3	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30
		P4	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30
		P5	3.31	4.10	5.20	5.19	5.19
		P6	4.80	6.99	7.49	7.49	7.49
	26/mai	P7	3.36	5.36	5.36	5.36	5.36
		P8	1.38	2.65	2.65	3.33	3.33
		P9	1.18	2.73	2.73	2.79	2.79
2ª Campanha	29/jun	P1	2.38	3.98	3.28	4.13	4.13
		P2	1.36	5.04	5.04	5.04	5.04
		P3	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30
		P4	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30
		P5	4.66	4.71	3.33	4.36	5.06
		P6	4.96	5.84	5.84	5.84	5.84
	05/jul	P7	1.87	4.20	4.20	4.20	4.20
		P8	4.63	3.91	5.17	5.17	4.84
		P9	1.59	2.33	2.74	2.81	2.86
3ª Campanha	05/ago	P1	2.66	3.01	4.25	5.60	5.84
		P2	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30
		P3	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30
		P4	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30
		P5	3.04	3.28	4.55	4.76	4.76
		P6	6.53	6.23	6.23	6.23	6.23
	12/ago	P7	2.38	4.13	4.13	4.13	4.13
		P8	3.62	2.91	3.81	3.74	4.59
		P9	2.17	3.91	3.91	4.76	5.32
4ª Campanha	25/ago	P1	1.06	2.33	2.33	2.33	2.33
		P2	1.37	3.28	3.36	3.05	3.05
		P3	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30
		P4	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30
		P5	3.96	3.36	4.28	4.84	4.84
		P6	4.04	4.87	4.87	6.02	5.91
	31/ago	P7	3.04	3.98	3.98	3.98	3.98
		P8	3.87	3.59	3.97	4.15	4.19
		P9	1.97	2.84	3.30	3.13	3.09
5ª Campanha	16/set	P1	1.17	2.65	2.57	3.13	3.13
		P2	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30
		P3	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30
		P4	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30
		P5	3.87	3.57	4.47	4.46	4.33
		P6	4.94	4.31	4.95	4.95	4.95
	31/ago	P7	1.61	3.98	3.98	1.61	1.61
		P8	3.63	3.13	3.49	3.58	3.74
		P9	0.55	0.30	0.30	0.30	0.30
6ª Campanha	18/out	P1	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30
		P2	1.32	2.33	2.33	2.33	2.33
		P3	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30
		P4	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30
		P5	4.17	3.10	5.15	4.42	5.17
		P6	2.66	4.06	4.17	4.17	4.17
	19/out	P7	5.91	6.10	6.02	6.02	6.02
		P8	3.96	4.36	5.81	5.81	5.66
		P9	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30

Apêndice III – Correlação entre as variáveis físico-químicas e microbiológicas pelo método tradicional e o método de microplacas de 96 poços (7º dia) para análise de contagem de MRS

Quadro III. 1 - Correlação entre as variáveis físico-químicas e microbiológicas para contagem de NMP de MRS/mL no ponto P2

P2 - BRS		DQO	SULFA	TOG	pH	COND	T	NTU	SST	ST	SSV	STV	SULFE	NH3	DUR	ALC	Fe	DBO	FR28	P7
DQO	rs	1,000	0,657	0,600	-0,200	-0,543	0,618	-0,257	0,000	-0,257	-0,086	-0,029	-0,600	0,200	0,314	0,714	-0,154	0,912*	-0,377	-0,348
	p	.	0,156	0,208	0,704	0,266	0,191	0,623	1,000	0,623	0,872	0,957	0,208	0,704	0,544	0,111	0,770	0,011	0,461	0,499
SULFA	rs	0,657	1,000	0,714	-0,657	-0,429	0,971**	0,257	0,493	-0,143	0,029	0,143	-0,086	0,600	0,771	0,600	0,278	0,677	-0,145	-0,0319
	p	0,156	.	0,111	0,156	0,397	0,001	0,623	0,321	0,787	0,957	0,787	0,872	0,208	0,072	0,208	0,594	0,140	0,784	0,538
TOG	rs	0,600	0,714	1,000	-0,200	-0,771	0,647	0,429	0,029	0,143	-0,371	-0,486	-0,429	0,314	0,371	0,486	0,679	0,794	0,116	-0,029
	p	0,208	0,111	.	0,704	0,072	0,165	0,397	0,957	0,787	0,468	0,329	0,397	0,544	0,468	0,329	0,138	0,059	0,827	0,957
pH	rs	-0,200	-0,657	-0,200	1,000	0,086	-0,736	0,086	-0,928**	-0,371	-0,714	-0,657	-0,086	-0,657	-0,886*	-0,143	-0,123	-0,294	0,348	0,319
	p	0,704	0,156	0,704	.	0,872	0,096	0,872	0,008	0,468	0,111	0,156	0,872	0,156	0,019	0,787	0,816	0,571	0,499	0,538
COND	rs	-0,543	-0,429	-0,771	0,086	1,000	-0,500	-0,371	-0,116	-0,257	0,086	0,600	0,829*	-0,543	0,029	-0,714	-0,370	-0,647	0,406	0,493
	p	0,266	0,397	0,072	0,872	.	0,312	0,468	0,827	0,623	0,872	0,208	0,042	0,266	0,957	0,111	0,470	0,165	0,425	0,321
T	rs	0,618	0,971**	0,647	-0,736	-0,500	1,000	0,265	0,642	-0,059	0,206	0,177	-0,177	0,765	0,736	0,677	0,207	0,621	-0,343	-0,508
	p	0,191	0,001	0,165	0,096	0,312	.	0,612	0,169	0,912	0,695	0,738	0,738	0,076	0,096	0,140	0,695	0,188	0,505	0,304
NTU	rs	-0,257	0,257	0,429	0,086	-0,371	0,265	1,000	0,058	-0,086	-0,429	-0,600	0,143	0,429	-0,086	0,257	0,617	-0,177	0,261	-0,116
	p	0,623	0,623	0,397	0,872	0,468	0,612	.	0,913	0,872	0,397	0,208	0,787	0,397	0,872	0,623	0,192	0,738	0,618	0,827
SST	rs	0,000	0,493	0,029	-0,928**	-0,116	0,642	0,058	1,000	0,377	0,812*	0,580	0,058	0,812*	0,667	0,203	0,031	0,045	-0,515	-0,529
	p	1,000	0,321	0,957	0,008	0,827	0,169	0,913	.	0,461	0,050	0,228	0,913	0,050	0,148	0,700	0,953	0,933	0,296	0,280
ST	rs	-0,257	-0,143	0,143	-0,371	-0,257	-0,059	-0,086	0,377	1,000	0,486	0,029	-0,257	0,143	0,200	-0,371	0,494	0,088	-0,058	0,145
	p	0,623	0,787	0,787	0,468	0,623	0,912	0,872	0,461	.	0,329	0,957	0,623	0,787	0,704	0,468	0,320	0,868	0,913	0,784
SSV	rs	-0,086	0,029	-0,371	-0,714	0,086	0,206	-0,429	0,812*	0,486	1,000	0,714	-0,086	0,486	0,371	-0,029	-0,339	-0,088	-0,667	-0,464
	p	0,872	0,957	0,468	0,111	0,872	0,695	0,397	0,050	0,329	.	0,111	0,872	0,329	0,468	0,957	0,510	0,868	0,148	0,354
STV	rs	-0,029	0,143	-0,486	-0,657	0,600	0,177	-0,600	0,580	0,029	0,714	1,000	0,429	0,086	0,600	-0,257	-0,463	-0,118	-0,232	-0,058
	p	0,957	0,787	0,329	0,156	0,208	0,738	0,208	0,228	0,957	0,111	.	0,397	0,872	0,208	0,623	0,355	0,824	0,658	0,913
SULFE	rs	-0,600	-0,086	-0,429	-0,086	0,829*	-0,177	0,143	0,058	-0,257	-0,086	0,429	1,000	-0,257	0,257	-0,600	0,062	-0,618	0,609	0,493
	p	0,208	0,872	0,397	0,872	0,042	0,738	0,787	0,913	0,623	0,872	0,397	.	0,623	0,623	0,208	0,908	0,191	0,200	0,321
NH3	rs	0,200	0,600	0,314	-0,657	-0,543	0,765	0,429	0,812*	0,143	0,486	0,086	-0,257	1,000	0,371	0,657	0,093	0,177	-0,638	-0,812*
	p	0,704	0,208	0,544	0,156	0,266	0,076	0,397	0,050	0,787	0,329	0,872	0,623	.	0,468	0,156	0,862	0,738	0,173	0,050
DUR	rs	0,314	0,771	0,371	-0,886*	0,029	0,736	-0,086	0,667	0,200	0,371	0,600	0,257	0,371	1,000	0,029	0,278	0,441	0,029	0,029
	p	0,544	0,072	0,468	0,019	0,957	0,096	0,872	0,148	0,704	0,468	0,208	0,623	0,468	.	0,957	0,594	0,381	0,957	0,957
ALC	rs	0,714	0,600	0,486	-0,143	-0,714	0,677	0,257	0,203	-0,371	-0,029	-0,257	-0,600	0,657	0,029	1,000	-0,185	0,530	-0,638	-0,812*
	p	0,111	0,208	0,329	0,787	0,111	0,140	0,623	0,700	0,468	0,957	0,623	0,208	0,156	0,957	.	0,725	0,280	0,173	0,050
Fe	rs	-0,154	0,278	0,679	-0,123	-0,370	0,207	0,617	0,031	0,494	-0,339	-0,463	0,062	0,093	0,278	-0,185	1,000	0,207	0,564	0,423
	p	0,770	0,594	0,138	0,816	0,470	0,695	0,192	0,953	0,320	0,510	0,355	0,908	0,862	0,594	0,725	.	0,695	0,244	0,404
DBO	rs	0,912*	0,677	0,794	-0,294	-0,647	0,621	-0,177	0,045	0,088	-0,088	-0,118	-0,618	0,177	0,441	0,530	0,207	1,000	-0,194	-0,134
	p	0,011	0,140	0,059	0,571	0,165	0,188	0,738	0,933	0,868	0,868	0,824	0,191	0,738	0,381	0,280	0,695	.	0,713	0,800
FR28	rs	-0,377	-0,145	0,116	0,348	0,406	-0,343	0,261	-0,515	-0,058	-0,667	-0,232	0,609	-0,638	0,029	-0,638	0,564	-0,194	1,000	0,912*
	p	0,461	0,784	0,827	0,499	0,425	0,505	0,618	0,296	0,913	0,148	0,658	0,200	0,173	0,957	0,173	0,244	0,713	.	0,011
P7	rs	-0,348	-0,319	-0,029	0,319	0,493	-0,508	-0,116	-0,529	0,145	-0,464	-0,058	0,493	-0,812*	0,029	-0,812*	0,423	-0,134	0,912*	1,000
	p	0,499	0,538	0,957	0,538	0,321	0,304	0,827	0,280	0,784	0,354	0,913	0,321	0,050	0,957	0,050	0,404	0,800	0,011	.

rs= Coeficiente de Spearman; * Valores significativos (p<0.05)

Quadro III. 2 - Correlação entre as variáveis físico-químicas e microbiológicas para contagem de NMP de MRS/mL e BANHT/mL no ponto P4

P4 – BRS e BANHT		pH	COND	T	SST	ST	DQO	NTU	TOG	SULFA	SULFE	ALC	FE	SSV	STV	NH3	FR28 e P7
pH	rs	1,000	00,143	-0,091	-0,213	-0,086	-0,771	-0,257	-0,429	-0,087	0,406	0,200	-0,370	-0,261	0,543	0,174	-
	p		0,787	0,864	0,686	0,872	0,072	0,623	0,397	0,870	0,425	0,704	0,470	0,618	0,266	0,742	-
COND	rs	0,143	1,000	0,577	0,334	0,086	0,086	-0,543	-0,029	-0,551	-0,232	-0,086	-0,309	-0,319	0,143	-0,058	-
	p	0,787		0,231	0,518	0,872	0,872	0,266	0,957	0,257	0,658	0,872	0,552	0,538	0,787	0,913	-
T	rs	-0,091	0,577	1,000	0,613	0,334	0,213	-0,152	-0,455	-0,092	0,400	0,577	-0,164	0,308	0,030	0,277	-
	p	0,864	0,231		0,196	0,518	0,686	0,774	0,364	0,862	0,431	0,231	0,756	0,553	0,954	0,595	-
SST	rs	-0,213	0,334	0,613	1,000	0,880*	0,698	-0,455	0,152	0,554	-0,092	0,638	-0,328	0,770	0,334	0,647	-
	p	0,686	0,518	0,196		0,021	0,123	0,364	0,774	0,254	0,862	0,173	0,526	0,073	0,518	0,165	-
ST	rs	-0,086	0,086	0,334	0,880*	1,000	0,657	-0,200	0,371	0,754	-0,174	0,714	-0,617	0,754	0,657	0,899*	-
	p	0,872	0,872	0,518	0,021		0,156	0,704	0,468	0,084	0,742	0,111	0,192	0,084	0,156	0,015	-
DQO	rs	-0,771	0,086	0,213	0,698	0,657	1,000	-0,086	0,657	0,435	-0,580	0,143	-0,123	0,551	0,029	0,348	-
	p	0,072	0,872	0,686	0,123	0,156		0,872	0,156	0,389	0,228	0,787	0,816	0,257	0,957	0,499	-
NTU	rs	-0,257	-0,543	-0,152	-0,455	-0,200	-0,086	1,000	0,029	0,000	0,203	0,086	-0,093	-0,145	-0,086	0,087	-
	p	0,623	0,266	0,774	0,364	0,704	0,872		0,957	1,000	0,700	0,872	0,862	0,784	0,872	0,870	-
TOG	rs	-0,429	-0,029	-0,455	0,152	0,371	0,657	0,029	1,000	0,232	-0,928**	-0,314	-0,339	0,000	0,314	0,203	-
	p	0,397	0,957	0,364	0,774	0,468	0,156	0,957		0,658	0,008	0,544	0,510	1,000	0,544	0,700	-
SULFA	rs	-0,087	-0,551	-0,092	0,554	0,754	0,435	0,000	0,232	1,000	0,059	0,638	-0,204	0,882*	0,406	0,721	-
	p	0,870	0,257	0,862	0,254	0,084	0,389	1,000	0,658		0,912	0,173	0,699	0,020	0,425	0,106	-
SULFE	rs	0,406	-0,232	0,400	-0,092	-0,174	-0,580	0,203	-0,928**	0,059	1,000	0,551	0,188	0,206	-0,145	0,074	-
	p	0,425	0,658	0,431	0,862	0,742	0,228	0,700	0,008	0,912		0,257	0,722	0,696	0,784	0,890	-
ALC	rs	0,200	-0,086	0,577	0,638	0,714	0,143	0,086	-0,314	0,638	0,551	1,000	-0,463	0,725	0,486	0,841*	-
	p	0,704	0,872	0,231	0,173	0,111	0,787	0,872	0,544	0,173	0,257		0,355	0,103	0,329	0,036	-
FERRO	rs	-0,370	-0,309	-0,164	-0,328	-0,617	-0,123	-0,093	-0,339	-0,204	0,188	-0,463	1,000	-0,016	-0,926**	-0,783	-
	p	0,470	0,552	0,756	0,526	0,192	0,816	0,862	0,510	0,699	0,722	0,355		0,977	0,008	0,066	-
SSV	rs	-0,261	-0,319	0,308	0,770	0,754	0,551	-0,145	0,000	0,882*	0,206	0,725	-0,016	1,000	0,145	0,618	-
	p	0,618	0,538	0,553	0,073	0,084	0,257	0,784	1,000	0,020	0,696	0,103	0,977		0,784	0,191	-
STV	rs	0,543	0,143	-0,030	0,334	0,657	0,029	-0,086	0,314	0,406	-0,145	0,486	-0,926**	0,145	1,000	0,812*	-
	p	0,266	0,787	0,954	0,518	0,156	0,957	0,872	0,544	0,425	0,784	0,329	0,008	0,784		0,050	-
AMONIA	rs	0,174	-0,058	0,277	0,647	0,899*	0,348	0,087	0,203	0,721	0,074	0,841*	-0,783	0,618	0,812*	1,000	-
	p	0,742	0,913	0,595	0,165	0,015	0,499	0,870	0,700	0,106	0,890	0,036	0,066	0,191	0,050		-
FR28 e P7	rs	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	p	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

rs= Coeficiente de Spearman; * Valores significativos (p<0.05)

Quadro III. 3 - Correlação entre as variáveis físico-químicas e microbiológicas para contagem de NMP de MRS/mL no ponto P8

P8 - BRS		DQO	SULFA	TOG	pH	COND	T	NTU	SST	ST	SSV	STV	SULFE	NH3	DUR	ALC	Fe	DBO	FR28	P7
DQO	rs	1,000	0,657	0,600	-0,200	-0,543	0,618	-0,257	0,000	-0,257	-0,086	-0,029	-0,600	0,200	0,314	0,714	-0,154	0,912*	-0,377	-0,348
	p	.	0,156	0,208	0,704	0,266	0,191	0,623	1,000	0,623	0,872	0,957	0,208	0,704	0,544	0,111	0,770	0,011	0,461	0,499
SULFA	rs	0,657	1,000	0,714	-0,657	-0,429	0,971**	0,257	0,493	-0,143	0,029	0,143	-0,086	0,600	0,771	0,600	0,278	0,677	-0,145	-0,319
	p	0,156	.	0,111	0,156	0,397	0,001	0,623	0,321	0,787	0,957	0,787	0,872	0,208	0,072	0,208	0,594	0,140	0,784	0,538
TOG	rs	0,600	0,714	1,000	-0,200	-0,771	0,647	0,429	0,029	0,143	-0,371	-0,486	-0,429	0,314	0,371	0,486	0,679	0,794	0,116	-0,029
	p	0,208	0,111	.	0,704	0,072	0,165	0,397	0,957	0,787	0,468	0,329	0,397	0,544	0,468	0,329	0,138	0,059	0,827	0,957
pH	rs	-0,200	-0,657	-0,200	1,000	0,086	-0,736	0,086	-0,928**	-0,371	-0,714	-0,657	-0,086	-0,657	-0,886*	-0,143	-0,123	-0,294	0,348	0,319
	p	0,704	0,156	0,704	.	0,872	0,096	0,872	0,008	0,468	0,111	0,156	0,872	0,156	0,019	0,787	0,816	0,571	0,499	0,538
COND	rs	-0,543	-0,429	-0,771	0,086	1,000	-0,500	-0,371	-0,116	-0,257	0,086	0,600	0,829*	-0,543	0,029	-0,714	-0,370	-0,647	0,406	0,493
	p	0,266	0,397	0,072	0,872	.	0,312	0,468	0,827	0,623	0,872	0,208	0,042	0,266	0,957	0,111	0,470	0,165	0,425	0,321
T	rs	0,618	0,971**	0,647	-0,736	-0,500	1,000	0,265	0,642	-0,059	0,206	0,177	-0,177	0,765	0,736	0,677	0,207	0,621	-0,343	-0,508
	p	0,191	0,001	0,165	0,096	0,312	.	0,612	0,169	0,912	0,695	0,738	0,738	0,076	0,096	0,140	0,695	0,188	0,505	0,304
NTU	rs	-0,257	0,257	0,429	0,086	-0,371	0,265	1,000	0,058	-0,086	-0,429	-0,600	0,143	0,429	-0,086	0,257	0,617	-0,177	0,261	-0,116
	p	0,623	0,623	0,397	0,872	0,468	0,612	.	0,913	0,872	0,397	0,208	0,787	0,397	0,872	0,623	0,192	0,738	0,618	0,827
SST	rs	0,000	0,493	0,029	-0,928**	-0,116	0,642	0,058	1,000	0,377	0,812*	0,580	0,058	0,812*	0,667	0,203	0,031	0,045	-0,515	-0,529
	p	1,000	0,321	0,957	0,008	0,827	0,169	0,913	.	0,461	0,050	0,228	0,913	0,050	0,148	0,700	0,953	0,933	0,296	0,280
ST	rs	-0,257	-0,143	0,143	-0,371	-0,257	-0,059	-0,086	0,377	1,000	0,486	0,029	-0,257	0,143	0,200	-0,371	0,494	0,088	-0,058	0,145
	p	0,623	0,787	0,787	0,468	0,623	0,912	0,872	0,461	.	0,329	0,957	0,623	0,787	0,704	,468	0,320	0,868	0,913	0,784
SSV	rs	-0,086	0,029	-0,371	-0,714	0,086	0,206	-0,429	0,812*	0,486	1,000	0,714	-0,086	0,486	0,371	-0,029	-0,339	-0,088	-0,667	-0,464
	p	,0872	0,957	0,468	0,111	0,872	0,695	0,397	0,050	0,329	.	0,111	0,872	0,329	0,468	0,957	0,510	0,868	0,148	0,354
STV	rs	-0,029	0,143	-0,486	-0,657	0,600	0,177	-0,600	0,580	0,029	0,714	1,000	0,429	0,086	0,600	-0,257	-0,463	-0,118	-0,232	-0,058
	p	0,957	0,787	0,329	0,156	0,208	0,738	0,208	0,228	0,957	0,111	.	0,397	0,872	0,208	0,623	0,355	0,824	0,658	0,913
SULFE	rs	-0,600	-0,086	-0,429	-0,086	0,829*	-0,177	0,143	0,058	-0,257	-0,086	0,429	1,000	-0,257	0,257	-0,600	0,062	-0,618	0,609	0,493
	p	0,208	0,872	0,397	0,872	0,042	0,738	0,787	0,913	0,623	0,872	0,397	.	0,623	0,623	0,208	0,908	0,191	0,200	0,321
NH3	rs	0,200	0,600	0,314	-0,657	-0,543	0,765	0,429	0,812*	0,143	0,486	0,086	-0,257	1,000	0,371	0,657	0,093	0,177	-0,638	-0,812*
	p	0,704	0,208	0,544	0,156	0,266	0,076	0,397	0,050	0,787	0,329	0,872	0,623	.	0,468	0,156	0,862	0,738	0,173	0,050
DUR	rs	0,314	0,771	0,371	-0,886*	0,029	0,736	-0,086	0,667	0,200	0,371	0,600	0,257	0,371	1,000	0,029	0,278	0,441	0,029	0,029
	p	0,544	0,072	0,468	0,019	0,957	0,096	0,872	0,148	0,704	0,468	0,208	0,623	0,468	.	0,957	0,594	0,381	0,957	0,957
ALC	rs	0,714	0,600	0,486	-0,143	-0,714	0,677	0,257	0,203	-0,371	-0,029	-0,257	-0,600	0,657	0,029	1,000	-0,185	0,530	-0,638	-0,812*
	p	0,111	0,208	0,329	0,787	0,111	0,140	0,623	0,700	0,468	0,957	0,623	0,208	0,156	0,957	.	0,725	0,280	0,173	0,050
Fe	rs	-0,154	0,278	0,679	-0,123	-0,370	0,207	0,617	0,031	0,494	-0,339	-0,463	0,062	0,093	0,278	-0,185	1,000	0,207	0,564	0,423
	p	0,770	0,594	0,138	0,816	0,470	0,695	0,192	0,953	0,320	0,510	0,355	0,908	0,862	0,594	0,725	.	0,695	0,244	0,404
DBO	rs	0,912*	0,677	0,794	-0,294	-0,647	0,621	-0,177	0,045	0,088	-0,088	-0,118	-0,618	0,177	0,441	0,530	0,207	1,000	-0,194	-0,134
	p	0,011	0,140	0,059	0,571	0,165	0,188	0,738	0,933	0,868	0,868	0,824	0,191	0,738	0,381	0,280	0,695	.	0,713	0,800
FR28	rs	-0,377	-0,145	0,116	0,348	0,406	-0,343	0,261	-0,515	-0,058	-0,667	-0,232	0,609	-0,638	0,029	-0,638	0,564	-0,194	1,000	0,912*
	p	0,461	0,784	0,827	0,499	0,425	0,505	0,618	0,296	0,913	0,148	0,658	0,200	0,173	0,957	0,173	0,244	0,713	.	0,011
P7	rs	-0,348	-0,319	-0,029	0,319	0,493	-0,508	-0,116	-0,529	0,145	-0,464	-0,058	0,493	-0,812*	0,029	-0,812*	0,423	-0,134	0,912*	1,000
	p	0,499	0,538	0,957	0,538	0,321	0,304	0,827	0,280	0,784	0,354	0,913	0,321	0,050	0,957	0,050	0,404	0,800	0,011	.

rs= Coeficiente de Spearman; * Valores significativos (p<0.05)

Quadro III. 4 - Correlação entre as variáveis físico-químicas e microbiológicas para contagem de NMP de MRS/mL no ponto P9

P9 - BRS		TURB	TOG	ALC	pH	COND	T	OD	SST	ST	SSV	STV	SULFA	SULFE	NH3	DUR	Fe	DBO	DQO	FR28	P7
TUR	rs	1,000	0,543	0,486	0,314	-0,200	0,441	-0,031	0,143	0,086	-0,086	-0,371	-0,371	-0,486	0,486	0,086	0,000	-0,088	-0,143	-0,551	-0,093
	p	.	0,266	0,329	0,544	0,704	0,381	0,954	0,787	0,872	0,872	0,468	0,468	0,329	0,329	0,872	1,000	0,868	0,787	0,257	0,862
TOG	rs	0,543	1,000	0,486	-0,086	0,143	0,353	0,185	-0,143	-0,257	-0,086	-0,714	-0,371	0,086	0,143	0,086	0,120	0,265	-0,543	-0,087	0,185
	p	0,266	.	0,329	0,872	0,787	0,492	0,725	0,787	0,623	0,872	0,111	0,468	0,872	0,787	0,872	0,822	0,612	0,266	0,870	0,725
ALC	rs	0,486	0,486	1,000	0,429	0,143	0,471	0,648	0,143	0,714	0,086	0,029	0,143	-0,257	0,886*	0,829*	0,478	0,177	-0,314	-0,812*	-0,525
	p	0,329	0,329	.	0,397	0,787	0,346	0,164	0,787	0,111	0,872	0,957	0,787	0,623	0,019	0,042	0,338	0,738	0,544	0,050	0,285
pH	rs	0,314	-0,086	0,429	1,000	0,600	-0,383	-0,185	-0,543	0,543	-0,714	0,314	0,257	-0,371	0,486	0,486	-0,359	0,265	0,714	-0,464	-0,309
	p	0,544	0,872	0,397	.	0,208	0,454	0,725	0,266	0,266	0,111	0,544	0,623	0,468	0,329	0,329	0,485	0,612	0,111	0,354	0,552
COND	rs	-0,200	0,143	0,143	0,600	1,000	-0,765	-0,093	-0,886*	0,029	-0,771	-0,143	-0,029	-0,086	0,029	0,143	-0,598	0,794	0,543	0,058	-0,154
	p	0,704	0,787	0,787	0,208	.	0,076	0,862	0,019	0,957	0,072	0,787	0,957	0,872	0,957	0,787	0,210	0,059	0,266	0,913	0,770
T	rs	0,441	0,353	0,471	-0,383	-0,765	1,000	0,445	0,794	0,265	0,706	0,029	0,118	0,118	0,383	0,353	0,862*	-0,591	-0,794	-0,388	0,000
	p	0,381	0,492	0,346	0,454	0,076	.	0,377	0,059	0,612	0,117	0,956	0,824	0,824	0,454	0,492	0,027	0,217	0,059	0,447	1,000
OD	rs	-0,031	0,185	0,648	-0,185	-0,093	0,445	1,000	0,525	0,525	0,648	-0,062	-0,093	-0,278	0,679	0,494	0,581	0,286	-0,617	-0,626	-0,733
	p	0,954	0,725	0,164	0,725	0,862	0,377	.	0,285	0,285	0,164	0,908	0,862	0,594	0,138	0,320	0,227	0,583	0,192	0,183	0,097
SST	rs	0,143	-0,143	0,143	-0,543	-0,886*	0,794	0,525	1,000	0,257	0,943**	0,143	-0,029	-0,143	0,314	0,086	0,717	-0,530	-0,657	-0,377	-0,278
	p	0,787	0,787	0,787	0,266	0,019	0,059	0,285	.	0,623	0,005	0,787	0,957	0,787	0,544	0,872	0,109	0,280	0,156	0,461	0,594
ST	rs	0,086	-0,257	0,714	0,543	0,029	0,265	0,525	0,257	1,000	0,143	0,657	0,543	-0,257	0,829*	0,886*	0,478	-0,088	0,086	-0,783	-0,648
	p	0,872	0,623	0,111	0,266	0,957	0,612	0,285	0,623	.	0,787	0,156	0,266	0,623	0,042	0,019	0,338	0,868	0,872	0,066	0,164
SSV	rs	-0,086	-0,086	0,086	-0,714	-0,771	0,706	0,648	0,943**	0,143	1,000	0,029	-0,086	-0,029	0,200	0,029	0,717	-0,353	-0,771	-0,232	-0,278
	p	0,872	0,872	0,872	0,111	0,072	0,117	0,164	0,005	0,787	.	0,957	0,872	0,957	0,704	0,957	0,109	0,492	0,072	0,658	0,594
STV	rs	-0,371	-0,714	0,029	0,314	-0,143	0,029	-0,062	0,143	0,657	0,029	1,000	0,886*	0,257	0,143	0,543	0,359	-0,530	0,371	-0,116	-0,062
	p	0,468	0,111	0,957	0,544	0,787	0,956	0,908	0,787	0,156	0,957	.	0,019	0,623	0,787	0,266	0,485	0,280	0,468	0,827	0,908
SULFA	rs	-0,371	-0,371	0,143	0,257	-0,029	0,118	-0,093	-0,029	0,543	-0,086	0,886*	1,000	0,600	0,029	0,657	0,478	-0,530	0,200	0,058	0,216
	p	0,468	0,468	0,787	0,623	0,957	0,824	0,862	0,957	0,266	0,872	0,019	.	0,208	0,957	0,156	0,338	0,280	0,704	0,913	0,681
SULFE	rs	-0,486	0,086	-0,257	-0,371	-0,086	0,118	-0,278	-0,143	-0,257	-0,029	0,257	0,600	1,000	-0,600	0,086	0,359	-0,441	-0,200	0,696	0,772
	p	0,329	0,872	0,623	0,468	0,872	0,824	0,594	0,787	0,623	0,957	0,623	0,208	.	0,208	0,872	0,485	0,381	0,704	0,125	0,072
NH3	rs	0,486	0,143	0,886*	0,486	0,029	0,383	0,679	0,314	0,829*	0,200	0,143	0,029	-0,600	1,000	0,714	0,359	0,177	-0,143	-0,986**	-0,802
	p	0,329	0,787	0,019	0,329	0,957	0,454	0,138	0,544	0,042	0,704	0,787	0,957	0,208	.	0,111	0,485	0,738	0,787	0,000	0,055
DUR	rs	0,086	0,086	0,829*	0,486	0,143	0,353	0,494	0,086	0,886*	0,029	0,543	0,657	0,086	0,714	1,000	0,598	-0,088	-0,086	-0,609	-0,370
	p	0,872	0,872	0,042	0,329	0,787	0,492	0,320	0,872	0,019	0,957	0,266	0,156	0,872	0,111	.	0,210	0,868	0,872	0,200	0,470
Fe	rs	0,000	0,120	0,478	-0,359	-0,598	0,862*	0,581	0,717	0,478	0,717	0,359	0,478	0,359	0,359	0,598	1,000	-0,554	-0,717	-0,303	-0,065
	p	1,000	0,822	0,338	0,485	0,210	0,027	0,227	0,109	0,338	0,109	0,485	0,338	0,485	0,485	0,210	.	0,254	0,109	0,559	0,903
DBO	rs	-0,088	0,265	0,177	0,265	0,794	-0,591	0,286	-0,530	-0,088	-0,353	-0,530	-0,530	-0,441	0,177	-0,088	-0,554	1,000	0,177	-0,134	-0,477
	p	0,868	0,612	0,738	0,612	0,059	0,217	0,583	0,280	0,868	0,492	0,280	0,280	0,381	0,738	0,868	0,254	.	0,738	0,800	0,339
DQO	rs	-0,143	-0,543	-0,314	0,714	0,543	-0,794	-0,617	-0,657	0,086	-0,771	0,371	0,200	-0,200	-0,143	-0,086	-0,717	0,177	1,000	0,116	0,000
	p	0,787	0,266	0,544	0,111	0,266	0,059	0,192	0,156	0,872	0,072	0,468	0,704	0,704	0,787	0,872	0,109	0,738	.	0,827	1,000
FR28	rs	-0,551	-0,087	-0,812*	-0,464	0,058	-0,388	-0,626	-0,377	-0,783	-0,232	-0,116	0,058	0,696	-0,986**	-0,609	-0,303	-0,134	0,116	1,000	0,814*
	p	0,257	0,870	0,050	0,354	0,913	0,447	0,183	0,461	0,066	0,658	0,827	0,913	0,125	0,000	0,200	0,559	0,800	0,827	.	0,049
P7	rs	-0,093	0,185	-0,525	-0,309	-0,154	0,000	-0,733	-0,278	-0,648	-0,278	-0,062	0,216	0,772	-0,802	-0,370	-0,065	-0,477	0,000	0,814*	1,000
	p	0,862	0,725	0,285	0,552	0,770	1,000	0,097	0,594	0,164	0,594	0,908	0,681	0,072	0,055	0,470	0,903	0,339	1,000	0,049	.

rs= Coeficiente de Spearman; * Valores significativos (p<0.05)

Quadro III. 5 - Correlação entre as variáveis físico-químicas e microbiológicas para contagem de NMP de BANHT/mL no ponto P2

P2 - BANHT	TUR	ST	STV	DQO	SULFA	TOG	pH	COND	T	SST	SSV	SULFE	NH3	ALC	Fe	DBO	FR28	P7
TUR	1,000	-0,152	-0,152	-0,030	-0,698	0,698	0,213	-0,698	0,431	-0,030	-0,092	-0,955**	0,213	0,213	-0,492	0,375	0,031	0,216
	.	0,774	0,774	0,954	0,123	0,123	0,686	0,123	0,393	0,954	0,862	0,003	0,686	0,686	0,322	0,464	0,954	0,682
ST	-0,152	1,000	1,000**	0,886*	0,143	0,029	-0,371	0,314	0,029	0,943**	0,377	0,000	0,771	0,829*	-0,278	0,000	-0,174	-0,464
	0,774	.	.	0,019	0,787	0,957	0,468	0,544	0,957	0,005	0,461	1,000	0,072	0,042	0,594	1,000	0,742	0,354
STV	-0,152	1,000**	1,000	0,886*	0,143	0,029	-0,371	0,314	0,029	0,943**	0,377	0,000	0,771	0,829*	-0,278	0,000	-0,174	-0,464
	0,774	.	.	0,019	0,787	0,957	0,468	0,544	0,957	0,005	0,461	1,000	0,072	0,042	0,594	1,000	0,742	0,354
DQO	-0,030	0,886*	0,886*	1,000	0,371	0,143	-0,657	0,200	0,058	0,943**	0,232	0,000	0,943**	0,886*	-0,370	0,441	-0,522	-0,754
	0,954	0,019	0,019	.	0,468	0,787	0,156	0,704	0,913	0,005	0,658	1,000	0,005	0,019	0,470	0,381	0,288	0,084
SULFA	-0,698	0,143	0,143	0,371	1,000	-0,486	-0,657	0,486	-0,203	0,200	-0,145	0,812*	0,257	0,086	0,278	0,353	-0,638	-0,696
	0,123	0,787	0,787	0,468	.	0,329	0,156	0,329	0,700	0,704	0,784	0,050	0,623	0,872	0,594	0,492	0,173	0,125
TOG	0,698	0,029	0,029	0,143	-0,486	1,000	-0,314	-0,143	0,058	0,257	0,580	-0,696	0,257	0,371	-0,926**	0,265	-0,174	-0,232
	0,123	0,957	0,957	0,787	0,329	.	0,544	0,787	0,913	0,623	0,228	0,125	0,623	0,468	0,008	0,612	0,742	0,658
pH	0,213	-0,371	-0,371	-0,657	-0,657	-0,314	1,000	-0,486	0,174	-0,600	-0,435	-0,290	-0,600	-0,543	0,525	-0,530	0,812*	0,986**
	0,686	0,468	0,468	0,156	0,156	0,544	.	0,329	0,742	0,208	0,389	0,577	0,208	0,266	0,285	0,280	0,050	0,000
COND	-0,698	0,314	0,314	0,200	0,486	-0,143	-0,486	1,000	-0,029	0,371	0,638	0,551	0,086	0,257	-0,185	-0,441	-0,377	-0,435
	0,123	0,544	0,544	0,704	0,329	0,787	0,329	.	0,957	0,468	0,173	0,257	0,872	0,623	0,725	0,381	0,461	0,389
T	0,431	0,029	0,029	0,058	-0,203	0,058	0,174	-0,029	1,000	0,116	-0,176	-0,515	0,348	0,406	-0,157	0,000	-0,368	0,132
	0,393	0,957	0,957	0,913	0,700	0,913	0,742	0,957	.	0,827	0,738	0,296	0,499	0,425	0,767	1,000	0,473	0,803
SST	-0,030	0,943**	0,943**	0,943**	0,200	0,257	-0,600	0,371	0,116	1,000	0,493	-0,087	0,886*	0,943**	-0,525	0,177	-0,435	-0,667
	0,954	0,005	0,005	0,005	0,704	0,623	0,208	0,468	0,827	.	0,321	0,870	0,019	0,005	0,285	0,738	0,389	0,148
SSV	-0,092	0,377	0,377	0,232	-0,145	0,580	-0,435	0,638	-0,176	0,493	1,000	-0,074	0,145	0,406	-0,751	-0,358	-0,103	-0,338
	0,862	0,461	0,461	0,658	0,784	0,228	0,389	0,173	0,738	0,321	.	0,890	0,784	0,425	0,085	0,486	0,846	0,512
SULFE	-0,955**	0,000	0,000	0,000	0,812*	-0,696	-0,290	0,551	-0,515	-0,087	-0,074	1,000	-0,232	-0,319	0,548	-0,134	-0,118	-0,294
	0,003	1,000	1,000	1,000	0,050	0,125	0,577	0,257	0,296	0,870	0,890	.	0,658	0,538	0,260	0,800	0,824	0,572
NH3	0,213	0,771	0,771	0,943**	0,257	0,257	-0,600	0,086	0,348	0,886*	0,145	-0,232	1,000	0,943**	-0,463	0,530	-0,638	-0,696
	0,686	0,072	0,072	0,005	0,623	0,623	0,208	0,872	0,499	0,019	0,784	0,658	.	0,005	0,355	0,280	0,173	0,125
ALC	0,213	0,829*	0,829*	0,886*	0,086	0,371	-0,543	0,257	0,406	0,943**	0,406	-0,319	0,943**	1,000	-0,617	0,265	-0,551	-0,609
	,686	0,042	0,042	,019	0,872	0,468	0,266	0,623	0,425	0,005	0,425	0,538	0,005	.	0,192	0,612	0,257	0,200
Fe	-0,492	-0,278	-0,278	-0,370	0,278	-0,926**	0,525	-0,185	-0,157	-0,525	-0,751	0,548	-0,463	-0,617	1,000	-0,191	0,391	0,454
	0,322	0,594	0,594	0,470	0,594	0,008	0,285	0,725	0,767	0,285	0,085	0,260	0,355	0,192	.	0,717	0,443	0,366
DBO	0,375	0,000	0,000	0,441	0,353	0,265	-0,530	-0,441	0,000	0,177	-0,358	-0,134	0,530	0,265	-0,191	1,000	-0,582	-0,582
	0,464	1,000	1,000	0,381	0,492	0,612	0,280	0,381	1,000	0,738	0,486	0,800	0,280	0,612	0,717	.	0,225	,225
FR28	0,031	-0,174	-0,174	-0,522	-0,638	-0,174	0,812*	-0,377	-0,368	-0,435	-0,103	-0,118	-0,638	-0,551	0,391	-0,582	1,000	0,824*
	0,954	0,742	,742	0,288	0,173	0,742	0,050	0,461	0,473	0,389	0,846	0,824	0,173	0,257	0,443	0,225	.	0,044
P7	0,216	-0,464	-0,464	-0,754	-0,696	-0,232	0,986**	-0,435	0,132	-0,667	-0,338	-0,294	-0,696	-0,609	0,454	-0,582	0,824*	1,000
	0,682	0,354	0,354	0,084	0,125	0,658	0,000	0,389	0,803	0,148	0,512	0,572	0,125	0,200	0,366	0,225	0,044	.

rs= Coeficiente de Spearman; * Valores significativos (p<0.05)

Quadro III. 6 - Correlação entre as variáveis físico-químicas e microbiológicas para contagem de NMP de BANHT/mL no ponto P8

P8 - BANHT		DQO	SULFA	TOG	pH	COND	T	TUR	SST	ST	SSV	STV	SULFE	NH3	DUR	ALC	Fe	DBO	FR28	P7
DQO	rs	1,000	0,657	0,600	-0,200	-0,543	0,618	-0,257	0,000	-0,257	-0,086	-0,029	-0,600	0,200	0,314	0,714	-0,154	0,912*	0,200	0,371
	p	.	0,156	0,208	0,704	0,266	0,191	0,623	1,000	0,623	0,872	0,957	0,208	0,704	0,544	0,111	0,770	0,011	0,704	0,468
SULFA	rs	0,657	1,000	0,714	-0,657	-0,429	0,971**	0,257	0,493	-0,143	0,029	0,143	-0,086	0,600	0,771	0,600	0,278	0,677	0,714	0,829*
	p	0,156	.	0,111	0,156	0,397	0,001	0,623	0,321	0,787	0,957	0,787	0,872	0,208	0,072	0,208	0,594	0,140	0,111	0,042
TOG	rs	0,600	0,714	1,000	-0,200	-0,771	0,647	0,429	0,029	0,143	-0,371	-0,486	-0,429	0,314	0,371	0,486	0,679	0,794	0,200	0,371
	p	0,208	0,111	.	0,704	0,072	0,165	0,397	0,957	0,787	0,468	0,329	0,397	0,544	0,468	0,329	0,138	0,059	0,704	0,468
pH	rs	-0,200	-0,657	-0,200	1,000	0,086	-0,736	0,086	-0,928**	-0,371	-0,714	-0,657	-0,086	-0,657	-0,886*	-0,143	-0,123	-0,294	-0,600	-0,486
	p	0,704	0,156	0,704	.	0,872	0,096	0,872	0,008	0,468	0,111	0,156	0,872	0,156	0,019	0,787	0,816	0,571	0,208	0,329
COND	rs	-0,543	-0,429	-0,771	0,086	1,000	-0,500	-0,371	-0,116	-0,257	0,086	0,600	0,829*	-0,543	0,029	-0,714	-0,370	-0,647	0,314	0,086
	p	0,266	0,397	0,072	0,872	.	0,312	0,468	0,827	0,623	0,872	0,208	0,042	0,266	0,957	0,111	0,470	0,165	0,544	0,872
T	rs	0,618	0,971**	0,647	-0,736	-0,500	1,000	0,265	0,642	-0,059	0,206	0,177	-0,177	0,765	0,736	0,677	0,207	0,621	0,618	0,736
	p	0,191	0,001	0,165	0,096	0,312	.	0,612	0,169	0,912	0,695	0,738	0,738	0,076	0,096	0,140	0,695	0,188	0,191	0,096
TUR	rs	-0,257	0,257	0,429	0,086	-0,371	0,265	1,000	0,058	-0,086	-0,429	-0,600	0,143	0,429	-0,086	0,257	0,617	-0,177	0,086	0,257
	p	0,623	0,623	0,397	0,872	0,468	0,612	.	0,913	0,872	0,397	0,208	0,787	0,397	0,872	0,623	0,192	0,738	0,872	0,623
SST	rs	0,000	0,493	0,029	-0,928**	-0,116	0,642	0,058	1,000	0,377	0,812*	0,580	0,058	0,812*	0,667	0,203	0,031	0,045	0,406	0,319
	p	1,000	0,321	0,957	0,008	0,827	0,169	0,913	.	0,461	0,050	0,228	0,913	0,050	0,148	0,700	0,953	0,933	0,425	0,538
ST	rs	-0,257	-0,143	0,143	-0,371	-0,257	-0,059	-0,086	,377	1,000	0,486	0,029	-0,257	0,143	0,200	-0,371	0,494	0,088	-0,314	-0,486
	p	0,623	0,787	0,787	0,468	0,623	,912	0,872	0,461	.	0,329	0,957	0,623	0,787	0,704	0,468	0,320	0,868	0,544	0,329
SSV	rs	-0,086	0,029	-0,371	-0,714	0,086	0,206	-0,429	0,812*	0,486	1,000	0,714	-0,086	0,486	0,371	0,-029	-0,339	-0,088	0,029	-0,143
	p	0,872	0,957	0,468	0,111	0,872	0,695	0,397	0,050	0,329	.	0,111	0,872	0,329	0,468	0,957	0,510	0,868	0,957	0,787
STV	rs	-0,029	0,143	-0,486	-0,657	0,600	0,177	-0,600	0,580	0,029	0,714	1,000	0,429	0,086	0,600	-0,257	-0,463	-0,118	0,543	0,314
	p	0,957	0,787	0,329	0,156	0,208	0,738	0,208	0,228	0,957	0,111	.	0,397	0,872	0,208	0,623	0,355	0,824	0,266	0,544
SULFE	rs	-0,600	-0,086	-0,429	-0,086	0,829*	-0,177	,143	0,058	-0,257	-0,086	0,429	1,000	-0,257	0,257	-0,600	0,062	-0,618	0,600	0,429
	p	0,208	0,872	0,397	0,872	0,042	0,738	0,787	0,913	0,623	0,872	0,397	.	0,623	0,623	0,208	0,908	0,191	0,208	0,397
NH3	rs	0,200	0,600	0,314	-0,657	-0,543	0,765	0,429	0,812*	0,143	0,486	0,086	-0,257	1,000	0,371	0,657	0,093	0,177	0,200	0,314
	p	0,704	0,208	0,544	0,156	0,266	0,076	0,397	0,050	0,787	0,329	0,872	0,623	.	0,468	0,156	0,862	0,738	0,704	0,544
DUR	rs	0,314	0,771	0,371	-0,886*	0,029	0,736	-0,086	0,667	0,200	0,371	0,600	0,257	0,371	1,000	0,029	0,278	0,441	0,829*	0,714
	p	0,544	0,072	0,468	0,019	0,957	0,096	0,872	0,148	0,704	0,468	0,208	0,623	0,468	.	0,957	0,594	0,381	0,042	0,111
ALC	rs	0,714	0,600	0,486	-0,143	-0,714	0,677	0,257	0,203	-0,371	-0,029	-0,257	-0,600	0,657	0,029	1,000	-0,185	0,530	0,029	0,314
	p	0,111	0,208	0,329	0,787	0,111	0,140	0,623	0,700	0,468	0,957	0,623	0,208	0,156	0,957	.	0,725	0,280	0,957	0,544
Fe	rs	-0,154	0,278	0,679	-0,123	-0,370	0,207	0,617	0,031	0,494	-0,339	-0,463	0,062	0,093	0,278	-0,185	1,000	0,207	0,123	0,123
	p	0,770	0,594	0,138	0,816	0,470	0,695	0,192	0,953	0,320	0,510	0,355	0,908	0,862	0,594	0,725	.	0,695	0,816	0,816
DBO	rs	0,912*	0,677	0,794	-0,294	-0,647	0,621	-0,177	0,045	0,088	-0,088	-0,118	-0,618	0,177	0,441	0,530	0,207	1,000	0,177	0,294
	p	0,011	0,140	0,059	0,571	0,165	0,188	0,738	0,933	0,868	0,868	0,824	0,191	0,738	0,381	0,280	0,695	.	0,738	0,571
FR28	rs	0,200	0,714	0,200	-0,600	0,314	0,618	0,086	0,406	-0,314	0,029	0,543	0,600	0,200	0,829*	0,029	0,123	0,177	1,000	0,943**
	p	0,704	0,111	0,704	0,208	0,544	0,191	0,872	0,425	0,544	0,957	0,266	0,208	0,704	0,042	0,957	0,816	0,738	.	0,005
P7	rs	0,371	0,829*	0,371	-0,486	0,086	0,736	0,257	0,319	-0,486	-0,143	0,314	0,429	0,314	0,714	0,314	0,123	0,294	0,943**	1,000
	p	0,468	0,042	0,468	0,329	0,872	0,096	0,623	0,538	0,329	0,787	0,544	0,397	0,544	0,111	0,544	0,816	0,571	0,005	.

rs= Coeficiente de Spearman; * Valores significativos (p<0.05)

Quadro III. 7 - Correlação entre as variáveis físico-químicas e microbiológicas para contagem de NMP de BANHT/mL no ponto P9

P9 - BANHT		TUR	TOG	ALC	pH	COND	T	OD	SST	ST	SSV	STV	SULFA	SULFE	NH3	DUR	Fe	DBO	DQO	FR28	P7
TUR	rs	1,000	0,543	0,486	0,314	-0,200	0,441	-0,031	0,143	0,086	-0,086	-0,371	-0,371	-0,486	0,486	0,086	0,000	-0,088	-0,143	-0,086	-0,203
	p		0,266	0,329	0,544	0,704	0,381	0,954	0,787	0,872	0,872	0,468	0,468	0,329	0,329	0,872	1,000	0,868	0,787	0,872	0,700
TOG	rs	0,543	1,000	0,486	-0,086	0,143	0,353	0,185	-0,143	-0,257	-0,086	-0,714	-0,371	0,086	0,143	0,086	0,120	0,265	-0,543	0,086	0,290
	p	0,266		0,329	0,872	0,787	0,492	0,725	0,787	0,623	0,872	0,111	0,468	0,872	0,787	0,872	0,822	0,612	0,266	0,872	0,577
ALC	rs	0,486	0,486	1,000	0,429	0,143	0,471	0,648	0,143	0,714	0,086	0,029	0,143	-0,257	0,886*	0,829*	0,478	0,177	-0,314	-0,314	-0,319
	p	0,329	0,329		0,397	0,787	0,346	0,164	0,787	0,111	0,872	0,957	0,787	0,623	0,019	0,042	0,338	0,738	0,544	0,544	0,538
pH	rs	0,314	-0,086	0,429	1,000	0,600	-0,383	-0,185	-0,543	0,543	-0,714	0,314	0,257	-0,371	0,486	0,486	-0,359	0,265	0,714	-0,086	-0,232
	p	0,544	0,872	0,397		0,208	0,454	0,725	0,266	0,266	0,111	0,544	0,623	0,468	0,329	0,329	0,485	0,612	0,111	0,872	0,658
COND	rs	-0,200	0,143	0,143	0,600	1,000	-0,765	-0,093	-0,886*	0,029	-0,771	-0,143	-0,029	-0,086	0,029	0,143	-0,598	0,794	0,543	-0,143	0,029
	p	0,704	0,787	0,787	0,208		0,076	0,862	0,019	0,957	0,072	0,787	0,957	0,872	0,957	0,787	0,210	0,059	0,266	0,787	0,957
T	rs	0,441	0,353	0,471	-0,383	-0,765	1,000	0,445	0,794	0,265	0,706	0,029	,118	0,118	0,383	0,353	0,862*	-0,591	-0,794	0,088	0,000
	p	0,381	0,492	0,346	0,454	0,076		0,377	0,059	0,612	0,117	0,956	0,824	0,824	0,454	0,492	0,027	0,217	0,059	0,868	1,000
OD	rs	-0,031	0,185	0,648	-0,185	-0,093	0,445	1,000	0,525	0,525	0,648	-0,062	-0,093	-0,278	0,679	0,494	0,581	0,286	-0,617	-0,679	-0,564
	p	0,954	0,725	0,164	0,725	0,862	0,377		0,285	0,285	0,164	0,908	0,862	0,594	0,138	0,320	0,227	0,583	0,192	0,138	0,244
SST	rs	0,143	-0,143	0,143	-0,543	-0,886*	0,794	0,525	1,000	0,257	0,943**	0,143	-0,029	-0,143	0,314	0,086	0,717	-0,530	-0,657	-0,257	-0,377
	p	0,787	0,787	0,787	0,266	0,019	0,059	0,285		0,623	0,005	0,787	0,957	0,787	0,544	0,872	0,109	0,280	0,156	0,623	0,461
ST	rs	0,086	-0,257	0,714	0,543	0,029	0,265	0,525	0,257	1,000	0,143	0,657	0,543	-0,257	0,829*	0,886*	0,478	-0,088	0,086	-0,314	-0,493
	p	0,872	0,623	0,111	0,266	0,957	0,612	0,285	0,623		0,787	0,156	0,266	0,623	0,042	0,019	0,338	0,868	0,872	0,544	0,321
SSV	rs	-0,086	-0,086	0,086	-0,714	-0,771	0,706	0,648	0,943**	0,143	1,000	0,029	-0,086	-0,029	0,200	0,029	0,717	-0,353	-0,771	-0,314	-0,319
	p	0,872	0,872	0,872	0,111	0,072	0,117	0,164	0,005	0,787		0,957	0,872	0,957	0,704	0,957	0,109	0,492	0,072	0,544	0,538
STV	rs	-0,371	-0,714	0,029	0,314	-0,143	0,029	-0,062	0,143	0,657	0,029	1,000	0,886*	0,257	0,143	0,543	0,359	-0,530	0,371	0,257	0,000
	p	0,468	0,111	0,957	0,544	0,787	0,956	0,908	0,787	0,156	0,957		0,019	0,623	0,787	0,266	0,485	0,280	0,468	0,623	1,000
SULFA	rs	-0,371	-0,371	0,143	0,257	-0,029	0,118	-0,093	-0,029	0,543	-0,086	0,886*	1,000	0,600	0,029	0,657	0,478	-0,530	0,200	0,543	0,377
	p	0,468	0,468	0,787	0,623	0,957	0,824	0,862	0,957	0,266	0,872	0,019		0,208	0,957	0,156	0,338	0,280	0,704	0,266	0,461
SULFE	rs	-0,486	0,086	-0,257	-0,371	-0,086	0,118	-0,278	-0,143	-0,257	-0,029	0,257	0,600	1,000	-0,600	0,086	0,359	-0,441	-0,200	0,829*	0,899*
	p	0,329	0,872	0,623	0,468	0,872	0,824	0,594	0,787	0,623	0,957	0,623	0,208		0,208	0,872	0,485	0,381	0,704	0,042	0,015
NH3	rs	0,486	0,143	0,886*	0,486	0,029	0,383	0,679	0,314	0,829*	0,200	0,143	0,029	-0,600	1,000	0,714	0,359	0,177	-0,143	-0,600	-0,696
	p	0,329	0,787	0,019	0,329	0,957	0,454	0,138	0,544	0,042	0,704	0,787	0,957	0,208		0,111	0,485	0,738	0,787	0,208	0,125
DUR	rs	0,086	0,086	0,829*	0,486	0,143	0,353	0,494	0,086	0,886*	0,029	0,543	0,657	0,086	0,714	1,000	0,598	-0,088	-0,086	-0,029	-0,116
	p	0,872	0,872	0,042	0,329	0,787	0,492	0,320	0,872	0,019	0,957	0,266	0,156	0,872	0,111		0,210	0,868	0,872	0,957	0,827
Fe	rs	0,000	0,120	0,478	-0,359	-0,598	0,862*	0,581	0,717	0,478	0,717	0,359	0,478	0,359	0,359	0,598	1,000	-0,554	-0,717	0,120	0,061
	p	1,000	0,822	0,338	0,485	0,210	0,027	0,227	0,109	0,338	0,109	0,485	0,338	0,485	0,485	0,210		0,254	0,109	0,822	0,909
DBO	rs	-0,088	0,265	0,177	0,265	0,794	-0,591	0,286	-0,530	-0,088	-0,353	-0,530	-0,530	-0,441	0,177	-0,088	-0,554	1,000	0,177	-0,618	-0,358
	p	0,868	0,612	0,738	0,612	0,059	0,217	0,583	0,280	0,868	0,492	0,280	0,280	0,381	0,738	0,868	0,254		0,738	0,191	0,486
DQO	rs	-0,143	-0,543	-0,314	0,714	0,543	-0,794	-0,0617	-0,657	0,086	-0,771	0,371	0,200	-0,200	-0,143	-0,086	-0,717	0,177	1,000	0,086	-0,058
	p	0,787	0,266	0,544	0,111	0,266	0,059	0,192	0,156	0,872	0,072	0,468	0,704	0,704	0,787	0,872	0,109	0,738		0,872	0,913
FR28	rs	-0,086	0,086	-0,314	-0,086	-0,143	0,088	-0,679	-0,257	-0,314	-0,314	0,257	0,543	0,829*	-0,600	-0,029	0,120	-0,618	0,086	1,000	0,928**
	p	0,872	0,872	0,544	0,872	0,787	0,868	0,138	0,623	0,544	0,544	0,623	0,266	0,042	0,208	0,957	0,822	0,191	0,872		0,008
P7	rs	-0,203	0,290	-0,319	-0,232	0,029	0,000	-0,564	-0,377	-0,493	-0,319	0,000	0,377	0,899*	-0,696	-0,116	0,061	-0,358	-0,058	0,928**	1,000
	p	0,700	0,577	0,538	0,658	0,957	1,000	,244	0,461	0,321	0,538	1,000	0,461	0,015	0,125	0,827	0,909	0,486	0,913	0,008	

rs= Coeficiente de Spearman; * Valores significativos (p<0.05)

Apêndice IV – Testes Estatísticos

Tabela IV.1: Teste de Friedman para MRS e BANHT

Pontos	MRS		BANHT	
	Valor de p	Friedman (Fr)	Valor de p	Friedman (Fr)
P1	0.4105*	3.9667	0.0289	10.8
P2	0.9702*	0.5333	0.2283*	5.6333
P3	N/A	N/A	N/A	N/A
P4	N/A	N/A	N/A	N/A
P5	0.0619*	8.9667	0.0197	11.7
P6	0.1487*	6.7667	0.1005*	7.7667
P7	0.9953*	0.2	0.0262	11.0333
P8	0.4151*	3.9333	0.0056	14.6
P9	0.8889*	1.1333	0.2017*	5.9667

N/A: Não Aplicável; *Indica diferença significativa ($p < 0,05$)

Tabela IV.2: Teste de Wilcoxon para o Método Tradicional e Método de Microplacas de 96 poços (7 dias, 14 dias, 21 dias, 28 dias) para MRS

Pontos	Valor de (p)			
	Frasco (28 dias) X Placas (7 dias)	Frasco (28 dias) X Placas (28 dias)	Placas (7 dias) X Placas (28 dias)	Placas (14 dias) X Placas (21 dias)
P1	0.8927*	0.5002*	0.1088*	0.3173*
P2	0.6858*	0.5002*	0.3173*	N/A
P3	N/A	N/A	N/A	N/A
P4	N/A	N/A	N/A	N/A
P5	0.0747*	0.2489*	0.1088*	0.138*
P6	0.0679*	0.0679*	0.1088*	0.1797*
P7	0.4652*	0.4652*	0.3173*	N/A
P8	0.2489*	0.7532*	0.285*	0.593*
P9	0.8927*	0.5002*	0.1797*	0.6547*

N/A: Não Aplicável; *Indica diferença significativa ($p < 0,05$)

Tabela IV.3: Teste de Wilcoxon para o Método Tradicional e Método de Microplacas de 96 poços (7 dias, 14 dias, 21 dias, 28 dias) para BANHT

Pontos	Valor de (p)			
	Frasco (28 dias) X Placas (7 dias)	Frasco (28 dias) X Placas (28 dias)	Placas (7 dias) X Placas (28 dias)	Placas (14 dias) X Placas (21 dias)
P1	0.0431	0.0431	0.1088*	0.1088*
P2	0.0679*	0.0679*	0.3173*	0.3173*
P3	N/A	N/A	N/A	N/A
P4	N/A	N/A	N/A	N/A
P5	0.6002*	0.0277	0.0277	0.6002*
P6	0.1159*	0.0747*	0.0679*	0.3173*
P7	0.0277	0.0431	0.1797*	0.3173*
P8	0.6002*	0.0277	0.0277	0.1441*
P9	0.0796*	0.0796*	0.0679*	0.4652*

N/A: Não Aplicável; *Indica diferença significativa($p < 0,05$)

Tabela IV.4: Correlação de Spearman para o Método Tradicional e Método de Microplacas de 96 poços (7 dias, 14 dias, 21 dias, 28 dias) para MRS

Amostras	Valor-p e rs	Frasco (28 dias) X Placas (7 dias)	Frasco (28 dias) X Placas (28 dias)	Placas (7 dias) X Placas (28 dias)	Placas (14 dias) X Placas (21 dias)
		P1	p	0.0676	0.2051
	rs	0.7794	0.6029	0.7647	0.8235
P2	p	0.0051*	0.0656	0.0401*	< 0.0001*
	rs	0.9411	0.7827	0.8317	1
P3	p	N/A	N/A	N/A	N/A
	rs	N/A	N/A	N/A	N/A
P4	p	N/A	N/A	N/A	N/A
	rs	N/A	N/A	N/A	N/A
P5	p	0.5918	0.2961	0.0439*	< 0.0001*
	rs	-0.2794	-0.5147	0.8235	1
P6	p	0.0051*	0.0051*	< 0.0001*	< 0.0001*
	rs	0.9412	0.9412	1	1
P7	p	0.0228*	0.0126*	0.0004*	< 0.0001*
	rs	0.874	0.9067	0.9837	1
P8	p	0.0113*	0.0835	0.0835	0.0048*
	rs	0.9118	0.7537	0.7537	0.9429
P9	p	0.0486*	0.0081*	0.0032*	0.0032*
	rs	0.8141	0.9255	0.9535	0.9535

rs= Coeficiente de Spearman; * Valores significativos ($p < 0.05$)

Tabela IV.5: Correlação de Spearman para o Método Tradicional e Método de Microplacas de 96 poços (7 dias, 14 dias, 21 dias, 28 dias) para BANHT

Amostras	Valor-p e rs	Frasco (28 dias) X Placas (7 dias)	Frasco (28 dias) X Placas (28 dias)	Placas (7 dias) X Placas (28 dias)	Placas (14 dias) X Placas (21 dias)
P1	p	0.0048*	< 0.0001*	0.0048*	< 0.0001*
	rs	0.9429	1	0.9429	1
P2	p	0.0439*	0.0439*	< 0.0001*	< 0.0001*
	rs	0.8235	0.8235	1	1
P3	p	N/A	N/A	N/A	N/A
	rs	N/A	N/A	N/A	N/A
P4	p	N/A	N/A	N/A	N/A
	rs	N/A	N/A	N/A	N/A
P5	p	0.704	0.6228	0.7872	0.3287
	rs	0.2	0.2571	0.1429	0.4857
P6	p	0.2656	0.4684	0.0048*	0.0415*
	rs	0.5429	0.3714	0.9429	0.8286
P7	p	0.1247	0.0723	0.0003*	0.0003*
	rs	0.6957	0.7714	0.9856	0.9856
P8	p	0.0048*	0.0723	0.0415*	< 0.0001*
	rs	0.9429	0.7714	0.8286	1
P9	p	0.0077*	0.0003*	0.0051*	< 0.0001*
	rs	0.9276	0.9856	0.9412	1

rs= Coeficiente de Spearman; * Valores significativos ($p < 0.05$)

10. ANEXO - Cálculo do NMP/100 ml utilizando regime de três tubos inoculados com 10, 1.0 e 0.1 ml da amostra

Tubos positivos			NMP	Tubos positivos			NMP
10 ml	1,0 ml	0,1 ml		10 ml	1,0 ml	0,1 ml	
0	0	1	3	2	0	0	9
0	0	2	6	2	0	1	14
0	0	3	9	2	0	2	20
0	1	0	3	2	0	3	26
0	1	1	6	2	1	0	15
0	1	2	9	2	1	1	20
0	1	3	12	2	1	2	27
0	2	0	6	2	1	3	34
0	2	1	9	2	2	0	21
0	2	2	12	2	2	1	28
0	2	3	16	2	2	2	35
0	3	0	9	2	2	3	42
0	3	1	13	2	3	0	29
0	3	2	16	2	3	1	36
0	3	3	19	2	3	2	44
1	0	0	4	2	3	3	53
1	0	1	7	3	0	0	23
1	0	2	11	3	0	1	39
1	0	3	15	3	0	2	64
1	1	0	7	3	0	3	95
1	1	1	11	3	1	0	43
1	1	2	15	3	1	1	75
1	1	3	19	3	1	2	120
1	2	0	11	3	1	3	160
1	2	1	15	3	2	0	93
1	2	2	20	3	2	1	150
1	2	3	24	3	2	2	210
1	3	0	16	3	2	3	290
1	3	1	20	3	3	0	240
1	3	2	24	3	3	1	460
1	3	3	29	3	3	2	1100
				3	3	3	1100+